



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

**Adición de lípidos ricos en ácidos grasos omega-3 a la
ración de cabras lecheras: efectos sobre la producción y
la evolución de la composición de la leche**

Alfonso Cívico García

Córdoba, 16 de febrero de 2017

TITULO: *ADICIÓN DE LÍPIDOS RICOS EN ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3 A LA RACIÓN DE CABRAS LECHERAS: EFECTOS SOBRE LA PRODUCCIÓN Y LA EVOLUCIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE*

AUTOR: *Alfonso Cívico García*

© Edita: UCOPress. 2017
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

www.uco.es/publicaciones
publicaciones@uco.es



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

**Adición de lípidos ricos en ácidos grasos omega-3 a la
ración de cabras lecheras: efectos sobre la producción y la
evolución de la composición de la leche**

Memoria de Tesis Doctoral presentada por
Alfonso Cívico García

y dirigida por

Dr. Andrés L. Martínez Marín

Departamento de Producción Animal
Universidad de Córdoba

y

Dr. Miguel Ángel de la Fuente Layos

Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación
Consejo Superior de Investigaciones Científicas – Universidad Autónoma de Madrid

para acceder al grado de Doctor, dentro del Programa Oficial de Doctorado en
Biociencias y Ciencias Agroalimentarias
de la Universidad de Córdoba.

Córdoba, 16 de febrero de 2017



TÍTULO DE LA TESIS: Adición de lípidos ricos en ácidos grasos omega-3 a la ración de cabras lecheras: efectos sobre la producción y la evolución de la composición de la leche

DOCTORANDO: Alfonso Cívico García

INFORME RAZONADO DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS

(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

El trabajo *“Adición de lípidos ricos en ácidos grasos omega-3 a la ración de cabras lecheras: efectos sobre la producción y la evolución de la composición de la leche”* elaborado por D. Alfonso Cívico García se ha desarrollado desde el año 2013 en distintas etapas con arreglo a los principios que rigen el trabajo científico. Los resultados obtenidos constituyen un valioso aporte a la comprensión de los efectos de la composición de la ración suministrada a los animales sobre las variaciones de los contenidos de los ácidos grasos en la grasa de la leche, en particular aquellos derivados del metabolismo de las bacterias ruminales. Los resultados también han contribuido a profundizar en el conocimiento del metabolismo de los ácidos grasos en la glándula mamaria, así como de los cambios temporales, a muy corto plazo, del perfil de ácidos grasos de la leche tras la modificación de la composición de la ración.

Con los resultados obtenidos se ha publicado un trabajo en la revista Italian Journal of Animal Science. Otro manuscrito ha sido aceptado y se encuentra en fase de edición en la Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia. Un tercer manuscrito se encuentra en fase de revisión menor en la revista Journal of Dairy Science. Por último, se están redactando dos manuscritos más, también para revistas indizadas en Journal of Citation Reports, y una comunicación a un congreso internacional.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la Tesis Doctoral.

Córdoba, 16 de Febrero de 2017

Firma de los directores

Fdo.: Dr. Andrés Luis Martínez Marín

Fdo.: Dr. Miguel Ángel de la Fuente Layos

AGRADECIMIENTOS

Después del gran esfuerzo realizado, es para mí una necesidad dar las gracias a las personas cuya contribución y apoyo han sido determinantes para la culminación de esta Tesis.

A mis directores de Tesis, los Doctores Andrés Luis Martínez Marín y Miguel Ángel de la Fuente Layos, quienes diseñaron las investigaciones y se preocuparon de que mi trabajo llegara a buen puerto.

A mi tutor en el Programa de Doctorado, el Doctor Francisco Peña Blanco por apoyo y disposición a ayudarme en todo cuanto he necesitado.

A la Doctora Nieves Núñez Sánchez y al Doctor Valeriano Domenech García por su inestimable ayuda en el desarrollo de las pruebas experimentales.

Al personal de administración y servicios de la Universidad de Córdoba, Don José Javier Pérez Hernández, por su dedicación en el cuidado de los animales, y Doña Inmaculada Andújar Ramírez, por su participación en la recogida y procesado de las muestras.

A Doña María del Valle Rodríguez Pino, técnico de laboratorio del Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL, CSIC-UAM), cuya dedicación y profesionalidad han sido fundamentales para el análisis de las muestras.

Al Profesor Manuel Pérez Hernández, de la Universidad de Córdoba, quien me descubrió el mundo de la Nutrición y Alimentación Animal durante la Licenciatura, y a las Doctoras Manuela Juárez Iglesias y Pilar Gómez Cortés, del CIAL, por sus valiosas aportaciones y sugerencias durante la redacción de los contenidos.

A Don José Luis Álvarez Chaves de Trouw Nutrition, Don Aurelio Guzmán Medina de Pienso Inalsa y Don Juan Francisco Díaz Pedraza, de Granja La Loma, que no dudaron en ayudarme con los recursos de sus respectivas empresas.

Por último, a mi mujer y mi hija por la comprensión que han mostrado en todo momento, así como a mis padres y hermanos por su confianza en mi éxito.

A todos, muchas gracias.

CONTENIDOS

Aceite de lino en cabras

ÍNDICE GENERAL

Índice general, III

Índice de tablas, VI

Índice de figuras, XV

1. Introducción y justificación, 1

2. Revisión bibliográfica, 9

2.1. Lípidos lácteos, 11

2.2. Ácidos grasos de la leche, 15

2.2.1. Ácidos grasos saturados, 17

2.2.2. Ácidos grasos monoinsaturados, 20

2.2.3. Ácidos grasos poliinsaturados, 23

2.3. Origen de los ácidos grasos de la leche, 26

2.3.1. Ácidos grasos preformados, 27

2.3.1.1. Ácidos grasos de los alimentos de los rumiantes, 28

2.3.1.2. Metabolismo lipídico en el rumen y ácidos grasos microbianos, 30

Lipólisis y biohidrogenación ruminal, 30

Síntesis microbiana de ácidos grasos, 35

2.3.2. Síntesis, elongación y desaturación de ácidos grasos en la glándula mamaria, 37

2.3.2.1. Síntesis *de novo*, 37

2.3.2.2. Elongación, 38

2.3.2.3. Δ -9 desaturación, 40

2.4. Efectos del tipo de ración sobre la producción y la composición de la leche y la grasa láctea, 43

2.4.1. Efectos de la grasa en la ración sobre la producción y composición de la leche, 43

2.4.2. Efectos de la grasa en la ración sobre la composición de la grasa láctea, 44

2.4.3.	Efectos del cambio de la ración suministrada sobre la composición de la grasa láctea,	46
2.4.4.	Efectos de la composición de la ración y su interacción con las fuentes de grasa añadidas a la misma en cabras,	48
2.5.	Los ácidos grasos de la leche como indicadores de la función ruminal,	56
2.6.	Semilla y aceite de lino en la alimentación de los rumiantes lecheros,	59
2.7.	Resumen,	61
3.	Objetivos,	63
4.	Material y métodos,	67
4.1.	Plan experimental,	69
4.2.	Animales, alojamiento y manejo general,	69
4.3.	Tratamientos y raciones,	70
4.4.	Diseño experimental,	74
4.5.	Recogida de muestras, medidas y análisis,	77
4.5.1.	Composición de los alimentos suministrados,	77
4.5.1.1.	Análisis de materia seca,	77
4.5.1.2.	Análisis de cenizas,	77
4.5.1.3.	Análisis de proteína bruta,	78
4.5.1.4.	Análisis de fibra neutro detergente,	78
4.5.1.5.	Análisis de almidón,	79
4.5.1.6.	Análisis de grasa por hidrólisis ácida,	80
4.5.1.7.	Análisis de los ácidos grasos del aceite,	80
4.5.2.	Medida del consumo de alimentos,	81
4.5.3.	Medida del peso vivo,	81
4.5.4.	Producción y composición de la leche,	81
4.5.4.1.	Medida de la producción de leche,	81
4.5.4.2.	Análisis de la composición de la leche,	82
4.5.4.3.	Contenido de los ácidos grasos de la grasa láctea,	82
4.5.4.4.	Otros cálculos,	85
4.6.	Análisis estadístico,	86
5.	Resultados y discusión,	89
5.1.	Composición de las raciones experimentales,	91

5.1.1. Resultados,	91
5.1.2. Discusión,	94
5.1.3. Conclusiones,	96
5.2. Experimentos 1 y 2,	97
5.2.1. Resultados,	97
5.2.1.1. Parámetros productivos,	97
5.2.1.2. Ácidos grasos de la grasa láctea,	98
Composición de la grasa láctea,	98
Correlaciones entre ácidos grasos de origen ruminal,	113
Parámetros calculados de la fermentación ruminal,	113
Análisis de componentes principales,	115
Análisis discriminante,	118
5.2.2. Discusión,	121
5.2.2.1. Resultados productivos,	121
5.2.2.2. Composición de la grasa láctea,	123
Efectos específicos del concentrado,	124
Efectos específicos del aceite de lino,	131
5.2.2.3. Implicaciones de los resultados obtenidos para las cualidades saludables de la grasa láctea,	156
5.3. Experimentos 3 y 4,	159
5.3.1. Resultados,	159
5.3.1.1. Ácidos grasos saturados,	166
5.3.1.2. Ácidos grasos monoinsaturados,	169
5.3.1.3. Ácidos grasos poliinsaturados,	179
5.3.2. Discusión,	185
5.3.2.1. Ácidos grasos saturados,	191
5.3.2.2. Ácidos grasos monoinsaturados,	196
5.3.2.3. Ácidos grasos poliinsaturados,	202
6. Conclusiones,	207
7. Resumen,	211
8. Summary,	215
9. Bibliografía,	219

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1. Composición (%) de la leche de vaca, oveja y cabra, 11

Tabla 2.2. Contenido (%) de las principales clases de lípidos en la grasa láctea, 12

Tabla 2.3. Esterificación de los ácidos grasos (% molar) con el glicerol en la leche, 14

Tabla 2.4. Clases de fosfolípidos (% molar) en la leche, 15

Tabla 2.5. Contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de los principales grupos de ácidos grasos en la grasa láctea, 16

Tabla 2.6. Contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de los principales ácidos grasos saturados lineales de cadena par en la grasa láctea con dos niveles de forraje y concentrado (F:C) y sin grasa suplementaria en la ración, 17

Tabla 2.7. Contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de ácidos grasos impares y ramificados en la grasa láctea con dos niveles de forraje y concentrado (F:C) y sin grasa suplementaria en la ración, 19

Tabla 2.8. Contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de cetoácidos e hidroxiácidos identificados en la grasa láctea de cabras, 20

Tabla 2.9. Contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de ácidos grasos monoinsaturados en la grasa láctea con dos niveles de forraje y concentrado (F:C) y sin grasa suplementaria en la ración, 22

Tabla 2.10. Contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de ácidos grasos diinsaturados de 18 átomos de carbono en la grasa láctea de animales que recibieron raciones sin grasa suplementaria, 24

Tabla 2.11. Contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de diversos ácidos grasos poliinsaturados en la grasa láctea con dos niveles de forraje y concentrado (F:C) y sin grasa suplementaria en la ración, 25

Tabla 2.12. Contribución (%) de las fuentes de ácidos grasos de la leche, 27

Tabla 2.13. Perfil de ácidos grasos (g/100 g de ácidos grasos) en forrajes, concentrados y aceites, 29

Tabla 2.14. Punto de fusión de algunos ácidos grasos de la grasa láctea, 41

Tabla 2.15. Efecto de la inclusión de semillas y aceites vegetales en la ración de ovejas y cabras sobre los resultados productivos, 44

Tabla 2.16. Efecto del nivel de inclusión en la ración de tres aceites vegetales con diferente grado de insaturación sobre los contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de algunos grupos de ácidos grasos en la grasa láctea de cabras, 45

Tabla 2.17. Efecto del cambio en la alimentación suministrada a los animales sobre los contenidos (g/1000 g de ácidos grasos) de algunos ácidos grasos y grupos de ácidos grasos en la grasa láctea, 46

Tabla 2.18. Cambios en el tiempo de los contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de algunos ácidos grasos y grupos de ácidos grasos en la grasa láctea tras comenzar a consumir una ración con aceite vegetal, 47

Tabla 2.19. Efecto de las características de la ración sobre los resultados productivos en cabras, 49

Tabla 2.20. Efecto de las características de la ración sobre los contenidos de los ácidos grasos saturados y sus productos de Δ -9 desaturación en la grasa láctea de cabras, 50

Tabla 2.21. Efecto de las características de la ración sobre los contenidos de los ácidos grasos saturados impares y ramificados en la grasa láctea de cabras, 51

Tabla 2.22. Efecto de las características de la ración sobre los contenidos de los ácidos grasos monoinsaturados de 18 átomos de carbono en la grasa láctea de cabras, 52

Tabla 2.23. Efecto de las características de la ración sobre los contenidos de los ácidos grasos diinsaturados de 18 átomos de carbono en la grasa láctea de cabras, 53

Tabla 2.24. Efecto de la interacción entre las características de la ración basal y la adición de semillas y aceites vegetales a la misma sobre los resultados productivos en cabras, 54

Tabla 2.25. Efecto de la interacción entre las características de la ración basal y la adición de semillas y aceites vegetales a la misma sobre los contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de algunos ácidos grasos y grupos de ácidos grasos en la grasa láctea de cabras, 55

Tabla 2.26. Efecto de la adición de semillas y aceites vegetales a la ración sobre la producción (l/d) de metano, 57

Tabla 2.27. Resultados del metaanálisis de los efectos de la inclusión de fuentes de grasa con diferente grado de insaturación en la ración sobre los contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de algunos ácidos grasos de la leche, 60

Tabla 4.1. Composición del heno de alfalfa incluido en las raciones, 70

Tabla 4.2. Composición del aceite de lino utilizado (g/100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos, 71

Tabla 4.3. Ingredientes y composición química de los concentrados experimentales, 72

Tabla 4.4. Ingredientes, composición química, valor nutritivo y aporte de ácidos grasos de las raciones empleadas en los experimentos, 73

Tabla 5.1. Consumo de alimentos y producción y composición de la leche de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 97

Tabla 5.2. Sumatorios (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los principales grupos de ácidos grasos de la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 99

Tabla 5.3. Contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de ácidos grasos saturados lineales, pares e impares, en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 101

Tabla 5.4. Índices de Δ -9 desaturación (producto/producto+sustrato) de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y diinsaturados de la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o en fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 102

Tabla 5.5. Contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de ácidos grasos ramificados, pares e impares, en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 103

Tabla 5.6. Contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de ácidos grasos C18:1 en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 105

Tabla 5.7. Contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de ácidos grasos monoinsaturados distintos de C18:1 en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 107

Tabla 5.8. Contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de ácidos grasos C18:2 en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 109

Tabla 5.9. Contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de ácidos grasos poliinsaturados distintos de C18:2 en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 111

Tabla 5.10. Transferencia aparente de ácidos grasos C18 a la leche, y relaciones entre la producción de C18 *trans* y el consumo de C18 insaturados en cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o

fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 112

Tabla 5.11. Correlaciones de Pearson entre los contenidos de ácidos grasos impares y ramificados y los contenidos de ácidos grasos intermediarios de las principales vías de biohidrogenación ruminal en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón o fibra neutro detergente, sin aceite o con aceite de lino, 114

Tabla 5.12. Producción calculada de ácidos grasos volátiles (AGV) y metano a partir de los contenidos de ácidos grasos específicos en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Experimento 1) o fibra neutro detergente (Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 115

Tabla 5.13. Resultados del análisis canónico discriminante (1, 2 y 3 son las funciones canónicas) a partir de los contenidos de ácidos grasos específicos en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón) o fibra neutro detergente (Fibra), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 119

Tabla 5.14. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los principales grupos de ácidos grasos en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3), 161

Tabla 5.15. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los principales grupos de ácidos grasos en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en fibra neutro detergente (Experimento 4), 162

Tabla 5.16. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos saturados lineales pares en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3), 164

Tabla 5.17. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos saturados lineales pares en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en fibra neutro detergente (Experimento 4), 165

Tabla 5.18. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos saturados lineales impares en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3), 167

Tabla 5.19. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos saturados lineales impares en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en fibra neutro detergente (Experimento 4), 168

Tabla 5.20. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos saturados ramificados en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3), 170

Tabla 5.21. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos saturados ramificados en la

grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en fibra neutro detergente (Experimento 4), 171

Tabla 5.22. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de ácidos grasos monoinsaturados diversos en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3), 173

Tabla 5.23. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de ácidos grasos monoinsaturados diversos en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en fibra neutro detergente (Experimento 4), 174

Tabla 5.24. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos C16:1 en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3), 175

Tabla 5.25. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos C16:1 en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en fibra neutro detergente (Experimento 4), 176

Tabla 5.26. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos C18:1 en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y

viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3), 177

Tabla 5.27. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos C18:1 en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en fibra neutro detergente (Experimento 4), 178

Tabla 5.28. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos C18:2 en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3), 180

Tabla 5.29. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos C18:2 en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en fibra neutro detergente (Experimento 4), 181

Tabla 5.30. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos poliinsaturados distintos de C18:2 en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3), 183

Tabla 5.31. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos poliinsaturados distintos de C18:2 en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en fibra neutro detergente (Experimento 4), 184

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. Proyección de Fisher de una molécula de triacilglicerol, 13

Figura 2.2. Síntesis y secreción de lípidos en la leche de los rumiantes, 26

Figura 2.3. Vías principales de la biohidrogenación ruminal y grupos de bacterias responsables, 31

Figura 2.4. Rutas de la biohidrogenación ruminal del ácido oleico. Las flechas continuas señalan las rutas principales, mientras que las flechas discontinuas indican las rutas de formación de isómeros minoritarios, 32

Figura 2.5. Rutas de la biohidrogenación ruminal del ácido linoleico. Las flechas continuas señalan las rutas principales, mientras que las flechas discontinuas indican las rutas de formación de isómeros minoritarios, 33

Figura 2.6. Rutas de la biohidrogenación ruminal del ácido α -linolénico. Las flechas continuas señalan las rutas principales, mientras que las flechas discontinuas indican las rutas de formación de isómeros minoritarios, 33

Figura 2.7. Rutas alteradas de la biohidrogenación ruminal, 34

Figura 2.8. Factores que afectan a la lipólisis y la biohidrogenación ruminal, 35

Figura 2.9. Síntesis microbiana de ácidos grasos impares y ramificados, 37

Figura 2.10. Origen de algunos ácidos grasos presentes en la grasa láctea de los rumiantes, 39

Figura 2.11. Representación esquemática del mecanismo de acción de la enzima estearoil-CoA desaturasa (SCD), 42

Figura 4.1. Diseño de los experimentos 1 y 2, 75

Figura 4.2. Diseño de los experimentos 3 y 4, 76

Figura 5.1. Carbohidratos de los concentrados **(a)** y las raciones **(b)** experimentales, 92

Figura 5.2. Aportes de ácidos grasos de las raciones experimentales, 93

Figura 5.3. Relación entre los ácidos grasos C15:0 iso y C17:0 iso **(a)** y C15:0 anteiso y C17:0 anteiso **(b)** en la grasa láctea de las cabras de ambos experimentos. Valores en g por 100 de ésteres metílicos de ácidos grasos, 104

Figura 5.4. Relación entre los ácidos grasos vaccénico y ruménico en la grasa láctea de las cabras del experimento 1 **(a)** y el experimento 2 **(b)**, 110

Figura 5.5. Gráfico de los dos primeros componentes principales, 116

Figura 5.6. Representación gráfica del análisis de la varianza de las puntuaciones factoriales de las observaciones en el componente principal 1 **(1)** y el componente principal 2 **(2)**, 117

Figura 5.7. Gráfico de las dos primeras funciones discriminantes canónicas, 120

Figura 5.8. Composición de la leche de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 122

Figura 5.9. Contenidos de algunos grupos de ácidos grasos en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control), 125

Figura 5.10. Contenidos de algunos ácidos grasos intermediarios de la biohidrogenación ruminal (C18:1 *trans*-11: vaccénico; C18:2 *cis*-9,*trans*-11: ruménico) en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control), 126

Figura 5.11. Contenidos de los ácidos butírico (C4:0) y cetoesteárico (C18:0 ceto-10) en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control), 129

Figura 5.12. Proporciones calculadas de ácidos grasos volátiles en el rumen de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control), 130

Figura 5.13. Producción diaria calculada de metano en el rumen de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control), 131

Figura 5.14. Contenidos de los ácidos laúrico (C12:0), mirístico (C14:0) y palmítico (C16:0) en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 133

Figura 5.15. Contenidos de los ácidos esteárico (C18:0) y oleico (C18:1 *cis*-9) en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 135

Figura 5.16. Contenidos de algunos grupos de ácidos grasos en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón,

Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), con aceite de lino (Aceite), 137

Figura 5.17. Relación entre los contenidos de los ácidos graso iso y anteiso (**a**) y contenido total de ácidos grasos impares de cadena media (**b**) en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 139

Figura 5.18. Contenido de C18:1 *trans*-10 en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 144

Figura 5.19. Contenido de ácido ruménico (C18:2 *cis*-9,*trans*-11) en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 145

Figura 5.20. Origen del ácido ruménico (C18:2 *cis*-9,*trans*-11) en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 147

Figura 5.21. Relación entre los contenidos de los ácidos C18:1 *trans*-10 y C18:2 *trans*-10,*cis*-12 y C18:2 *trans*-10,*cis*-15 en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 150

Figura 5.22. Contenido de los ácidos C16:1 *trans*-9 y C16:2 en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón,

Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 152

Figura 5.23. Contenido de los ácidos linoleico y α -linolénico en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite), 155

Figura 5.24. Evolución de los contenidos de los ácidos grasos saturados lineales pares totales en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4), 186

Figura 5.25. Evolución de los contenidos de los ácidos grasos saturados iso totales en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4), 188

Figura 5.26. Evolución de los contenidos de los ácidos grasos C18:1 *trans* totales en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4), 190

Figura 5.27. Evolución de los contenidos de los ácidos grasos C18:2 conjugados totales en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4), 191

Figura 5.28. Evolución de los contenidos de los ácidos mirístico (C14:0) y palmítico (C16:0) en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4), 193

Figura 5.29. Evolución de los contenidos de los ácidos miristoleico (C14:1 *cis*-9) y palmitoleico (C16:1 *cis*-9) en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4), 194

Figura 5.30. Evolución del contenido del ácido cetoesteárico en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4), 197

Figura 5.31. Evolución de los contenidos de los ácidos C16:1 *trans*-9 y C16:2 en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4), 199

Figura 5.32. Evolución de los contenidos de los ácidos vaccénico (C18:1 *trans*-11) y ruménico (C18:2 *cis*-9,*trans*-11) en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4), 201

Figura 5.33. Evolución de los contenidos de los ácidos C18:2 *trans*-10,*cis*-15 y C18:2 *trans*-11,*cis*-15 en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado

de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4), 203

Figura 5.34. Evolución de los contenidos de ácido α -linolénico en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4), 205

1. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, hay considerable evidencia científica de que la dieta consumida repercute sobre la salud humana (WHO/FAO, 2003; Sofi *et al.*, 2008). Las características de los alimentos consumidos juegan un papel fundamental en el mantenimiento de la salud y la prevención de enfermedades. Por otro lado, la leche y los derivados lácteos son parte habitual de una dieta humana equilibrada (Bach-Faig *et al.*, 2011). La leche es el primer alimento consumido por los mamíferos y aporta la energía y los nutrientes necesarios para el crecimiento y el desarrollo de los recién nacidos. La leche aporta a la dieta humana proteínas de elevado valor biológico, vitaminas y minerales (Pereira, 2014). Los lípidos figuran entre los consituyentes más importantes de la leche, en razón de aspectos económicos, nutritivos y de las características físicas y organolépticas que se deben a ellos (Gordon, 2013).

Los lípidos de la leche están constituidos mayoritariamente por triacilgliceroles que contienen más de 400 ácidos grasos diferentes (Schröder y Vetter, 2013). Esta diversidad es debida al metabolismo lipídico de los microorganismos ruminales y la actividad enzimática de la glándula mamaria (Sanz Sampelayo *et al.*, 2007). El grupo de ácidos grasos saturados de cadena media (C12:0, C14:0 y C16:0) es el más importante desde el punto de vista cuantitativo. Este hecho ha determinado que algunas corrientes de opinión científica consideren la grasa de la leche como desaconsejable desde el punto de vista de la salud humana, ya que es bien conocida la relación entre el consumo excesivo de dichos ácidos grasos y el riesgo de enfermedad cardiovascular (Ulbricht y Southgate, 1991; Astrup *et al.*, 2011). Sin embargo, la grasa láctea también es prácticamente el único aporte a la dieta de un elevado número de ácidos grasos cuantitativamente menores, pero con efectos potencialmente beneficiosos sobre la salud humana. Entre estos ácidos grasos, los que han despertado más interés en los últimos años son el ácido butírico, los impares y ramificados, y algunos ácidos grasos intermediarios de la biohidrogenación ruminal como el ácido linoleico conjugado, debido a que han mostrado variados efectos fisiológicos *in vivo*, *in vitro* y con modelos animales, entre los que destaca su actividad antitumoral (Parodi, 2006; Shingfield *et al.*, 2008). La producción de

leche con un perfil de ácidos grasos más apropiado de acuerdo con las recomendaciones de las autoridades sanitarias tendría el potencial de contribuir a la mejora de la salud humana sin necesidad de cambios sustanciales en los hábitos de los consumidores (Shingfield *et al.*, 2010a)

Dado que la ración consumida por las hembras rumiantes juega un papel fundamental en el perfil de ácidos grasos de la grasa láctea, se han propuesto diversas estrategias de alimentación con el fin de potenciar los contenidos de ácidos grasos eventualmente beneficiosos en detrimento de los considerados perjudiciales (Shingfield *et al.*, 2013; Nudda *et al.*, 2014). Entre dichas estrategias, destaca la inclusión de semillas y aceites vegetales ricos en ácidos grasos insaturados en la ración porque reducen los contenidos de ácidos grasos saturados de cadena media y aumentan simultáneamente los de los ácidos grasos insaturados y los intermediarios de la biohidrogenación ruminal en la grasa láctea (Martínez Marín *et al.*, 2013e). Estos cambios se relacionan con efectos directos de los ácidos grasos insaturados aportados por las fuentes de grasa sobre los microorganismos ruminales y la glándula mamaria (Chilliard *et al.*, 2000; Chilliard y Ferlay, 2004). Los trabajos de Mele *et al.* (2008) y Bernard *et al.* (2009c) indican que en cabras, como en vacas (Shingfield *et al.*, 2005) y ovejas (Gómez-Cortés *et al.*, 2011), existe una interacción del aceite añadido a la dieta con la relación forraje/concentrado y el tipo de forraje (ensilado o heno), que repercute sobre el perfil de ácidos grasos de la leche. Sin embargo, no hemos encontrado trabajos con cabras en los se haya investigado la interacción entre el aceite añadido a la ración y el tipo de concentrado de la misma (basado en cereales o subproductos fibrosos). Por otra parte, los resultados publicados hasta la fecha señalan que el aceite de lino produce un mayor número de cambios beneficiosos, desde el punto de vista de la salud humana, en la composición de la grasa láctea de las cabras en comparación con los aceites de soja, girasol alto oleico y girasol normal (Bernard *et al.*, 2009c; Martínez Marín *et al.*, 2011a, 2012).

El efecto de la inclusión de aceites vegetales en las raciones para hembras rumiantes normalmente se ha estudiado tras períodos de adaptación iguales o superiores a 15 días (Mele *et al.*, 2008, Bernard *et al.*, 2009c; Martínez Marín *et al.*, 2011a, 2012). Por otro lado, la persistencia a medio y largo plazo de los cambios observados en la composición de la grasa láctea en respuesta a las raciones con aceites añadidos ha sido objeto de numerosos estudios (Roy *et al.*, 2006; Luna *et al.*, 2008; Gómez-Cortés *et al.*, 2011; Mohammed *et al.*, 2011a). Sin embargo, la información sobre las modificaciones de la grasa láctea en las primeras horas tras el consumo de una ración con aceite es muy limitada (Martínez Marín *et al.*, 2013a; Soják *et al.*, 2015). La escasez de trabajos al respecto es notable si se tiene en cuenta que estudios *in vitro* con poblaciones microbianas del rumen han mostrado que los ácidos grasos intermediarios de la biohidrogenación ruminal se acumulan en el medio de cultivo apenas media hora después de la adición de aceite al mismo (Mosley *et al.*, 2002; Jouany *et al.*, 2007).

La composición química de leche de cabra, dentro de su variabilidad entre razas, la convierte en una alternativa a la de vaca para el consumo humano y se la considera incluso superior, desde un punto de vista nutricional, debido a su mayor cercanía a la leche humana (Zervas y Tsiplakou, 2013). El consumo de leche de cabra se ha recomendado como sustituto de la leche bovina en la dieta de individuos que sufren alergia a la misma. Además, la leche de cabra muestra ventajas terapéuticas y nutricionales sobre la leche de vaca en determinados trastornos digestivos y metabólicos, como el síndrome de malabsorción lipídica o elevados niveles de colesterol en sangre, debido específicamente al elevado contenido de ácidos grasos de cadena corta, de fácil digestión y metabolismo, en su grasa (Park, 2009).

Según datos de FAOSTAT (2013), España es el octavo productor mundial de leche de cabra y el segundo de la Unión Europea (443625 Tn). Con más de 2,5 millones de cabezas, nuestro país también ocupa el segundo lugar de la Unión Europea por censo caprino. La mayor parte del censo caprino español (80%) se

concentra en las regiones del sur de la Península Ibérica y Canarias, destacando Andalucía con un tercio del censo total (MAGRAMA, 2013). En dichas regiones, la escasez y el elevado precio de los forrajes de alta calidad hacen necesario el uso abundante de alimentos concentrados en las raciones para el ganado caprino lechero. En estas circunstancias, los cereales son la principal fuente de energía de las raciones e influyen marcadamente en su coste. Una posibilidad para reducir el coste de las raciones es la sustitución de parte de los cereales de la ración por subproductos ricos en fibra neutro detergente, que pueden ser particularmente abundantes en determinadas zonas y cuyo coste es generalmente inferior al de los cereales (Vasta *et al.*, 2008; Molina Alcaide *et al.*, 2010; Romero-Huelva *et al.*, 2012).

A pesar de la relevancia internacional de la ganadería caprina española, aún son pocos los trabajos de investigación realizados en nuestro país relativos a la respuesta de las cabras a la inclusión de aceites vegetales ricos en ácidos grasos insaturados, especialmente aquellos que aportan ácidos grasos n-3 (Luna *et al.*, 2008; Martínez Marín *et al.*, 2011a, 2012, 2013c). Por otra parte, algunos trabajos publicados ofrecen información de los efectos de reemplazar parte del concentrado de la ración por diferentes combinaciones de subproductos agroindustriales sobre la producción y composición de la leche y la composición de la grasa láctea (Molina Alcaide *et al.*, 2010; Modaresi *et al.*, 2011; Romero-Huelva *et al.*, 2012). Cabe señalar que, en dichos trabajos, las raciones aportaron cantidades similares de fibra neutro detergente. Recientemente, Ibañez *et al.* (2015a, 2015b) investigaron el efecto de reemplazar los cereales de la ración por subproductos fibrosos (con el consiguiente cambio en la relación fibra neutro detergente/almidón de la ración) sobre la producción y composición de la leche, pero no estudiaron los cambios en el perfil de ácidos grasos de la grasa láctea.

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, la investigación planteada en la presente Tesis podría contribuir al conocimiento sobre el efecto de los carbohidratos mayoritarios de la ración y su interacción con el aceite de lino

sobre la producción y composición de la leche, y la composición de la grasa láctea en cabras. Asimismo, podría aportar información relevante en cuanto a los cambios a muy corto plazo de los contenidos de los ácidos grasos en la grasa láctea tras la inclusión o la retirada de aceite de lino de la ración, en función de la clase de carbohidratos mayoritarios en la misma.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. LÍPIDOS LÁCTEOS

Los lípidos son los componentes más importantes de la leche en cuanto al valor y las características nutritivas, físicas y químicas que confieren a la leche y los productos lácteos. Por otra parte, también son el componente cuantitativa y cualitativamente más variable de leche, en función del estado de lactación, estación, raza, genotipo y alimentación de los animales (Raynal-Ljutovac *et al.*, 2008). El porcentaje de lípidos de la leche es típicamente mayor en ovejas, con las cabras y vacas en una posición similar, claramente más baja (**Tabla 2.1**).

Tabla 2.1. Composición (%) de la leche de vaca, oveja y cabra (Barlowska *et al.*, 2011).

	Grasa	Proteína	Lactosa
Vacas, n = 30			
Media	4,09	3,42	4,82
Desviación típica	0,46	0,35	0,21
Mínimo	3,23	2,54	4,40
Máximo	5,34	4,19	5,33
Ovejas, n = 30			
Media	6,99	5,73	4,75
Desviación típica	1,23	0,61	0,35
Mínimo	4,10	3,35	3,70
Máximo	9,30	6,60	5,21
Cabras, n = 30			
Media	4,07	3,26	4,51
Desviación típica	0,76	0,46	0,26
Mínimo	3,06	2,38	4,08
Máximo	6,02	4,43	5,09

Los lípidos de la leche se encuentran físicamente en forma de glóbulos esféricos microscópicos, envueltos por una membrana que está compuesta mayoritariamente por lípidos y proteínas. Los glóbulos son característicamente más pequeños en la leche de oveja y cabra que en la de vaca (3,30 y 3,49 vs

4,55 μm , respectivamente) (Park *et al.*, 2007). Los lípidos de la leche son mayoritariamente triacilglicerolos, pero también contienen cantidades menores de di y monoacilglicerolos, ácidos grasos libres, fosfolípidos y esteroides, y trazas de vitaminas liposolubles y β -caroteno (**Tabla 2.2**).

Tabla 2.2. Contenido (%) de las principales clases de lípidos en la grasa láctea (Gordon, 2013).

	Vacas	Ovejas	Cabras
Triacilglicerolos	98,3	98,1	97,3
Diacilglicerolos	0,30	1,45*	1,89*
Monoacilglicerolos	0,03	0,03	0,10
Ácidos grasos libres	0,1	-	-
Fosfolípidos	0,8	0,38	0,65
Insaponificables	1,5	N.D.	N.D.
Esteroides	0,30	0,30	0,36

*Incluye colesterol y ácidos grasos libres. N.D.: no disponible.

Los triacilglicerolos contienen tres moléculas de ácidos grasos esterificados a una molécula de glicerol. Dado el elevado número de ácidos grasos presentes en los triacilglicerolos (más de 400), el número de moléculas de triacilglicerol posibles es superior a 100.000 (Gordon, 2013). La distribución de los ácidos grasos en cada una de las posiciones del glicerol (**Figura 2.1**) no es al azar (**Tabla 2.3**). El ácido palmítico (C16:0) se esterifica preferentemente en las posiciones sn-1 y sn-2, mientras que el ácido esteárico (C18:0) lo hace sobre todo en la posición sn-1 y el ácido oleico (C18:1 *cis*-9) se localiza en las posiciones sn-1 y sn-3. Los ácidos grasos de menos de 16 carbonos son esterificados principalmente en las posiciones sn-2 y sn-3 del glicerol. Esta distribución preferencial es relevante para la síntesis eficiente de triacilglicerolos.

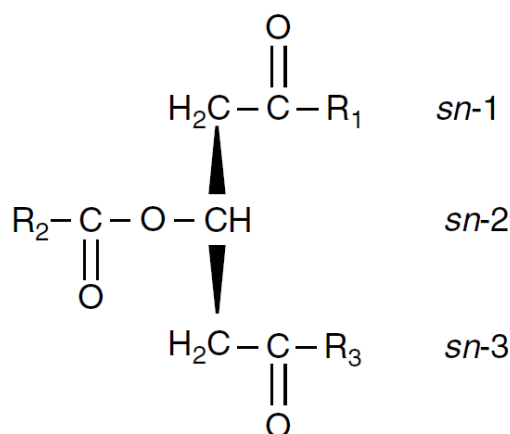


Figura 2.1. Proyección de Fisher de una molécula de triacilglicerol.

La incorporación de los ácidos grasos de cadena corta al glicerol requiere de la disponibilidad de ácidos grasos preformados de 16 o más carbonos para la acilación inicial, que ocurre en la posición sn-1 (Hansen y Knudsen, 1987a). En este sentido, Hansen y Knudsen (1987b) demostraron con cultivos de células mamarias que los ácidos grasos que se incorporan preferentemente en la posición sn-1 del glicerol estimulan la síntesis de ácidos grasos y la formación de triacilgliceroles, los ácidos grasos que se incorporan principalmente en la posición sn-3 tienen un efecto inhibitorio porque compiten con los ácidos grasos de cadena corta, y los ácidos grasos que se distribuyen indistintamente, como el ácido láurico (C12:0), tienen un efecto neutro. En la leche de cabra, los triacilgliceroles más abundantes contienen los ácidos caprílico (C8:0), cáprico (C10:0) o láurico, y oleico (Fontecha *et al.*, 2000). En la leche de oveja, los triacilgliceroles mayoritarios están compuestos por los ácidos butírico (C4:0), palmítico y oleico (Fontecha *et al.*, 2005), igual que en la leche de vaca (Fraga *et al.*, 1998). Las características de los ácidos grasos y su distribución asimétrica en la molécula de glicerol repercuten en las propiedades físicas de la grasa láctea, influyendo sobre el punto de fusión y atenuando el elevado grado de saturación de los ácidos grasos absorbidos en intestino (Chilliard y Ferlay, 2004).

Tabla 2.3. Esterificación de los ácidos grasos mayoritarios (% molar) con el glicerol en la leche (MacGibbon y Taylor, 2006).

	<u>Vacas</u>			<u>Ovejas</u>			<u>Cabras</u>		
	sn-1	sn-2	sn-3	sn-1	sn-2	sn-3	sn-1	sn-2	sn-3
C4:0		0,4	30,6			10,8			13,2
C6:0		0,7	13,8			10,4			10,6
C8:0	0,3	3,5	4,2	0,3	2	4,4	1,7	1,2	4,6
C10:0	1,4	8,1	7,5	1,4	5,2	10,3	3,3	6,9	12,2
C12:0	3,5	9,5	4,5	2,2	4,7	3,5	4	4,6	1,2
C14:0	13,1	25,6	6,9	8,2	17,6	5,3	8,4	20,3	2,7
C16:0	43,8	38,9	9,3	38	23,8	2,5	43,6	33,9	3,4
C18:0	17,6	4,6	6	19,1	12,6	9,1	15,3	6,3	7,7
C18:1	19,7	8,4	17,1	18,7	19,3	27,2	16,1	16,1	30,2
C18:2				2,7	4,2	6	0,3	2,5	4,5
C18:3				2,2	1,7	4,4			

Los fosfolípidos suponen menos de un 1% de los lípidos de la leche (**Tabla 2.2**). En torno a un 60% de ellos forma parte de la membrana de los glóbulos grasos y el resto se localiza en la fase acuosa (Gallier *et al.*, 2010). A pesar de su baja proporción, los fosfolípidos tienen un importante papel en la leche debido a sus propiedades anfífilas. Los más abundantes son fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina y esfingomielina (**Tabla 2.4**) y contienen una elevada proporción de ácidos grasos mono y poliinsaturados en cantidades muy variables según las clases (Sánchez-Juanes *et al.*, 2009). Los esteroides son también componentes lipídicos minoritarios en la grasa láctea (**Tabla 2.2**). El colesterol representa un 95% del total de esteroides y su contenido es similar en la leche de los rumiantes domésticos (Gordon, 2013).

Las propiedades químicas de los lípidos de la leche influyen considerablemente en el punto de fusión de la grasa láctea y, por tanto, en las propiedades tecnológicas de los derivados lácteos. El amplio intervalo de temperatura de fusión de la grasa láctea (7 a 36°C) se relaciona directamente con la gran diversidad de triacilglicerol presentes en la misma (McGibbon y Taylor, 2006).

Tabla 2.4. Clases de fosfolípidos (% molar) en la leche (MacGibbon y Taylor, 2006).

	Fosfatidil				Esfingomielina
	etanolamina	inositol	serina	colina	
Vacas	32	5	3	35	25
Ovejas	36	3	3	29	28
Cabras	33	6	7	26	28

2.2. ÁCIDOS GRASOS DE LA LECHE

La grasa láctea de los rumiantes es una de las grasas naturales más complejas que se conocen, debido a que contiene una enorme variedad de ácidos grasos de estructuras muy diversas. Hasta la fecha, se han identificado más de 400 ácidos grasos, la gran mayoría en cantidades muy pequeñas (<0,01%) y solamente 15 en cantidad superior a un 1% (Schröder y Vetter, 2013). Esta diversidad de ácidos grasos es debida al metabolismo lipídico de los microorganismos ruminales y a la actividad enzimática de la glándula mamaria (Sanz Sampelayo *et al.*, 2007). Por otro lado, las proporciones de los ácidos grasos en la grasa láctea es relativamente variable en función de la alimentación, el estado de lactación y la especie y la raza (Shingfield *et al.*, 2013).

En general, los ácidos grasos de la leche se clasifican en saturados, sin dobles enlaces, y mono o poliinsaturados cuando presentan uno o más dobles enlaces. En función del número de átomos de carbono de la cadena hidrocarbonada, se habla de ácidos grasos de cadena corta (6 a 10 átomos de carbono), media (12 a 16 átomos de carbono) y larga (18 o más átomos de carbono). Los ácidos grasos saturados pueden ser de cadena lineal o ramificada (iso, anteiso y otros ramificados). Los ácidos grasos iso y anteiso tienen un grupo metilo lateral unido al penúltimo y antepenúltimo carbono de la cadena, respectivamente. Los demás ramificados presentan uno o varios grupos metilos en cualquier otro lugar de la cadena (metil sustituidos no terminales). Los ácidos grasos insaturados pueden clasificarse atendiendo a la posición del primer doble

enlace contando desde el grupo metilo terminal, por ejemplo, n-3 (ω -3) y n-6 (ω -6), cuando el doble enlace se sitúa entre los carbonos tres y cuatro y seis y siete, respectivamente. Para una misma fórmula química, los ácidos grasos insaturados pueden tener múltiples isómeros de naturaleza posicional por la localización de los dobles enlaces en la cadena hidrocarbonada, y geométrica según los hidrógenos unidos a los átomos de carbono del doble enlace se encuentren en el mismo lado (*cis*) o a ambos lados (*trans*) del enlace doble. Los ácidos grasos poliinsaturados con dobles enlaces se dividen en conjugados y no conjugados. En los primeros, sólo hay un enlace sencillo entre al menos una pareja de dobles enlaces de la molécula. (Palmquist, 2006; Martínez Marín *et al.*, 2010a; Gordon, 2013). La grasa láctea de vacas, ovejas y cabras es típicamente rica en ácidos grasos saturados, con contenidos inferiores de monoinsaturados y más pequeños de poliinsaturados (**Tabla 2.5**).

Tabla 2.5. Contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de los principales grupos de ácidos grasos en la grasa láctea (Devle *et al.*, 2012).

Ácidos grasos	Vacas	Ovejas	Cabras
Saturados	69,67	57,51	59,87
Monoinsaturados	27,49	39,14	35,86
Poliinsaturados	3,22	3,42	2,67
n-6	1,74	1,78	1,78
n-3	0,74	0,72	0,44

Las cantidades relativas de ácidos grasos *cis* y *trans* en la grasa láctea ejercen una considerable influencia en su punto de fusión. La configuración *cis* del doble enlace causa una fuerte torsión de la cadena hidrocarbonada, mientras que la configuración *trans* solamente ocasiona una ligera desviación. Esta diferencia hace que los triacilglicerolos con ácidos grasos *cis* tengan menor densidad al solidificarse que los aquellos con ácidos grasos *trans* o saturados, resultando en un menor punto de fusión (MacGibbon y Taylor, 2006).

2.2.1. Ácidos grasos saturados

Los ácidos grasos saturados que se encuentran en la leche en cantidades significativas tienen cadenas hidrocarbonadas lineales cuya longitud varía entre 4 y 18 átomos de carbono (**Tabla 2.6**). El ácido palmítico es mayoritario, seguido por los ácidos mirístico (C14:0) y esteárico. En conjunto, los ácidos grasos saturados de cadena media, laúrico, mirístico y palmítico, suman algo más de un 40% de los ácidos grasos totales. Este valor es negativo desde el punto de vista de la salud humana por la relación entre el consumo de dichos ácidos grasos y el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares (Ulbricht y Southgate, 1991).

Tabla 2.6. Contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de los principales ácidos grasos saturados lineales de cadena par en la grasa láctea con dos niveles de forraje y concentrado (F:C) y sin grasa suplementaria en la ración.

Ácidos grasos	Vacas ¹		Ovejas ²		Cabras ³	
	70:30	30:70	70:30	30:70	64:36	13:57
C4:0	2,94	2,36	4,19	4,19	1,95	1,93
C6:0	1,82	1,54	3,69	3,66	2,47	2,49
C8:0	1,07	1,03	3,64	3,49	2,87	2,95
C10:0	2,63	3,05	9,65	12,15	10,87	11,26
C12:0	3,13	3,97	6,21	5,26	5,63	6,01
C14:0	10,66	11,62	10,88	12,22	12,59	12,52
C16:0	30,54	27,47	26,24	24,98	27,61	26,98
C18:0	7,40	7,37	6,75	5,92	7,12	6,96
C6:0+C8:0+C10:0	5,52	5,62	16,98	19,30	16,21	16,70
C12:0+C14:0+C16:0	44,33	43,06	43,33	42,46	45,83	45,51

¹Datos de Saliba *et al.* (2014).

²Datos de Gómez-Cortés *et al.* (2011).

³Datos de Ollier *et al.* (2009).

Por otro lado, los ácidos grasos de cadena media, caproico (C6:0), caprílico y cáprico, se encuentran en mayores cantidades en la grasa láctea ovina y caprina (13-15%) que en la de vaca (7%). A diferencia de los ácidos grasos

saturados de cadena media, los ácidos grasos de cadena corta son relevantes por tres aspectos positivos: i) se absorben no esterificados en el intestino delgado y son metabolizados rápidamente en el hígado, contribuyendo a la regulación del metabolismo energético; ii) su presencia compensa el elevado punto de fusión de los ácidos grasos saturados de cadena media y larga y los ácidos grasos insaturados con dobles enlaces en posición *trans*, permitiendo que la grasa láctea se mantenga líquida a temperatura fisiológica; y iii) se asocian con los aromas característicos de la leche y los derivados lácteos de los pequeños rumiantes (MacGibbon y Taylor, 2006; Parodi, 2006; Park *et al.*, 2007). El contenido de ácido butírico es relativamente elevado (2-4%) y determina que la grasa láctea sea la única fuente relevante del mismo a la dieta humana, lo que es destacable desde el punto de vista de la salud porque este ácido graso posee propiedades anticarcinogénicas (Parodi, 2006).

Los ácidos grasos impares y ramificados son un grupo de ácidos grasos saturados con 5 a 23 átomos de carbono que se encuentran en la grasa láctea en cantidades inferiores a un 3% (Devle *et al.*, 2012) (**Tabla 2.7**). Utilizando el análisis de conglomerados con datos de leche de cabra, Massart-Leën y Massart (1981) concluyeron que estos ácidos grasos podrían agruparse en cinco clases de acuerdo con su origen metabólico: iso pares, iso impares, anteiso, metil sustituidos no terminales, e impares de cadena lineal. Los ácidos grasos impares lineales de cadena media (C13:0, C15:0, C17:0) y los iso y anteiso presentes en la grasa láctea son mayoritariamente de origen microbiano, mientras que los ácidos grasos lineales impares de cadena corta y los metil sustituidos no terminales son de origen mamario. Estos últimos parecen ser prácticamente exclusivos de la leche caprina (Massart-Leen *et al.*, 1981, Ha y Lindsay, 1993). En el grupo de los ácidos grasos impares lineales, C15:0 y C17:0 son mayoritarios. En los ácidos grasos ramificados, los iso se encuentran en mayor proporción que los anteiso, y también los de 15 y 17 átomos de carbono presentan los contenidos más elevados. Los ácidos grasos metil sustituidos no terminales son muy numerosos en la leche de cabra, pero su contenido total es inferior a un 0,2% de los ácidos grasos totales (Alonso *et al.*, 1999).

Tabla 2.7. Contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de ácidos grasos impares y ramificados en la grasa láctea con dos niveles de forraje y concentrado (F:C) y sin grasa suplementaria en la ración.

Ácidos grasos	<u>Vacas</u> ¹		<u>Ovejas</u> ²		<u>Cabras</u> ³	
	70:30	30:70	70:30	30:70	64:36	43:57
Ramificados						
C13:0 iso	0,02	0,02	0,02	0,01	N.R.	N.R.
C13:0 anteiso	0,01	0,01	0,05	0,06	N.R.	N.R.
C14:0 iso	0,09	0,05	0,15	0,09	0,13	0,12
C15:0 iso	0,22	0,17	0,23	0,15	0,24	0,19
C15:0 anteiso	0,40	0,38	0,43	0,38	0,46	0,39
C16:0 iso	0,20	0,16	0,36	0,44	0,28	0,25
C17:0 iso	0,26	0,29		0,53	0,35	0,29
C17:0 anteiso	0,35	0,36		0,30	0,33*	0,34**
C18:0 iso	0,05	0,03	0,07	0,06	0,03	0,02
Total iso	0,83	0,73	1,36	1,28	1,03	0,87
Total anteiso	0,76	0,75	0,78	0,74	0,79	0,73
Total ramificados	1,60	1,48	2,14	2,02	1,82	1,60
Impares lineales						
C5:0	0,02	0,03	N.R.	N.R.	0,02	0,03
C7:0	0,03	0,04		0,02	0,04	0,06
C9:0	0,03	0,06		0,05	0,08	0,12
C11:0	0,05	0,13		0,07	0,14	0,20
C13:0	0,08	0,18	0,20	0,16	0,25	0,29
C15:0	1,13	1,42	0,92	0,80	1,32	1,26
C17:0	0,48	0,49	0,51	0,45	0,66	0,55
Total	1,83	2,35	1,77	1,55	2,51	2,51

¹Datos de Saliba *et al.* (2014).

²Datos de Gómez-Cortés *et al.* (2011), excepto C17:0 iso y C17:0 anteiso y C7:0 a C11:0 cuyo contenido ha sido tomado de De la Fuente *et al.* (2013) y Devle *et al.* (2012), respectivamente.

³Datos de Ollier *et al.* (2009), excepto C17:0 anteiso cuyo contenido ha sido tomado de Serment *et al.* (2011). *Ración con un 65% de forraje. **Ración con un 30% de forraje. N.R.: no reportado.

A pesar de ser cuantitativamente irrelevantes, los ácidos grasos impares y ramificados han despertado gran interés en los últimos años porque sus contenidos en la grasa láctea pueden servir como indicadores biológicos de la

función ruminal (Vlaeminck *et al.*, 2006a; Fievez *et al.*, 2012). Además, algunos ácidos grasos iso tienen potenciales efectos inhibitorios sobre células tumorales (Wongtangtintharn *et al.*, 2004; Cai *et al.*, 2013) y el consumo de C15:0 y C17:0 se relaciona con el menor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares (Jenkins *et al.*, 2015). Los ácidos grasos ramificados no terminales confieren propiedades organolépticas a los productos lácteos (Woo y Lindsay, 1984).

La grasa láctea también contiene, en cantidades muy pequeñas, más de 60 cetoácidos e hidroxiácidos, algunos de los cuales contribuyen al aroma de la leche y los productos lácteos (MacGibbon y Taylor, 2006) (**Tabla 2.8**). La identificación y cuantificación de estos ácidos grasos es relevante porque se relacionan con el metabolismo lipídico microbiano (Jenkins *et al.*, 2006; McKain *et al.*, 2010). Además, algunos estudios han mostrado que los hidroxiácidos tienen efectos inhibitorios del crecimiento celular (Abe y Sugiyama, 2005) y potentes efectos tóxicos sobre las células tumorales (Casali *et al.*, 1994).

Tabla 2.8. Contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de cetoácidos e hidroxiácidos identificados en la grasa láctea de cabras (Márquez-Ruiz *et al.*, 2011).

Ácidos grasos	Control	Aceite ¹		
		Girasol alto oleico	Girasol normal	Lino
C16:0 ceto-8	0,04	0,18	0,06	0,06
C16:0 hidroxi-8	0,00	0,11	0,03	0,02
C18:0 ceto-10	0,07	0,81	0,15	0,13
C18:0 hidroxi-10	0,03	0,34	0,08	0,06

¹Nivel de inclusión: 4% sobre materia seca.

2.2.2. Ácidos grasos monoinsaturados

Entre los ácidos grasos monoinsaturados de la grasa láctea con el doble enlace en posición *cis*, el grupo con 18 átomos de carbono es mayoritario (**Tabla 2.9**).

El contenido de ácido oleico es muy superior al de los restantes C18:1 *cis*, representando en torno a un 15-20% de los ácidos grasos totales. Los restantes C18:1 *cis* se encuentran en cantidades muy inferiores. Otros ácidos grasos monoinsaturados *cis*, cuantitativamente minoritarios pero relevantes desde el punto de vista del metabolismo de la glándula mamaria, son C14:1 *cis*-9, C16:1 *cis*-9 y C17:1 *cis*-9 (Fievez *et al.*, 2003; Bernard *et al.*, 2013).

Los ácidos grasos monoinsaturados *trans* son el resultado de la biohidrogenación ruminal incompleta de los ácidos grasos insaturados aportados por los alimentos (ver más adelante). El ácido vaccénico (C18:1 *trans*-11) es claramente mayoritario en el grupo de monoinsaturados *trans* en vacas, ovejas y cabras (**Tabla 2.9**). Los contenidos de C18:1 *trans*-9 y C18:1 *trans*-10 son muy inferiores a los presentes en las grasas industriales parcialmente hidrogenadas (Shingfield *et al.*, 2008). Esta diferenciación es muy importante porque el consumo de ácidos grasos con dobles enlaces en posición *trans* se ha asociado con el riesgo de padecer enfermedad cardiovascular en humanos (Zock, 2006), pero el efecto no parece asociarse con el consumo de grasas animales no manipuladas industrialmente (Mozzafarian *et al.*, 2009). De hecho, al ácido vaccénico se le atribuyen efectos positivos sobre la salud humana por su propia actividad biológica así como por su conversión a ácido ruménico (C18:2 *cis*-9,*trans*-11) en los tejidos (Field *et al.*, 2009).

El grupo de C16:1 *trans* se encuentra en la grasa láctea en cantidad muy inferior al de los C18:1 *trans* (**Tabla 2.9**). La mejora de las técnicas cromatográficas ha permitido una cuantificación más precisa en los últimos años, evitando su coelución con C17:0 iso y C17:0 anteiso (Luna *et al.*, 2009; Fievez *et al.*, 2012). El papel biológico de estos ácidos grasos no es bien conocido, aunque algunos estudios indican que su efecto sobre el organismo es diferente al de los C18:1 *trans* (Mozzafarian *et al.*, 2009). De hecho, parece que C16:1 *trans*-9 podría ejercer efectos positivos sobre la salud humana (Mozzafarian *et al.*, 2010; Mozzafarian *et al.*, 2013). El origen de este ácido graso en la grasa láctea aún no está aclarado (Wood, 1979; Luna *et al.*, 2009; Kadegowda *et al.*, 2013).

Tabla 2.9. Contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de ácidos grasos monoinsaturados en la grasa láctea con dos niveles de forraje y concentrado (F:C) y sin grasa suplementaria en la ración.

Ácidos grasos	Vacas ¹		Ovejas ²		Cabras ³	
	70:30	30:70	70:30	30:70	64:36	43:57
C18:1 <i>cis</i>						
<i>cis</i> -9	13,18	14,27	15,41	11,20	14,77	14,22
<i>cis</i> -11	0,35	0,74	0,37	0,34	0,38	0,45
<i>cis</i> -12	0,17	0,23	0,26	0,40	0,14	0,16
<i>cis</i> -13	0,08	0,09	0,05	0,06	0,03	0,04
<i>cis</i> -14	0,04	0,03	0,30	0,27	0,05	0,05
<i>cis</i> -15	0,04	0,02	0,09	0,06	N.R.	N.R.
<i>cis</i> -16	N.R.	N.R.	0,03	0,02	N.R.	N.R.
Total	13,85	15,38	16,48	12,33	15,37	14,92
C18:1 <i>trans</i>						
<i>trans</i> -4	0,01	0,01	N.R.	N.R.	0,01	0,01
<i>trans</i> -5	0,01	0,01	N.R.	N.R.	0,01	0,01
<i>trans</i> -6,7,8	0,14	0,16	0,17	0,29	0,13	0,19
<i>trans</i> -9	0,12	0,13	0,17	0,23	0,18	0,22
<i>trans</i> -10	0,12	0,18	0,27	0,83	0,19	0,26
<i>trans</i> -11	1,13	0,64	1,16	1,54	0,86	1,34
<i>trans</i> -12	0,12	0,18	0,2	0,28	0,16	0,21
<i>trans</i> -13	0,07	0,11	N.R.	N.R.	0,31	0,36
<i>trans</i> -14	0,12	0,17	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
<i>trans</i> -15	0,21	0,17	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
<i>trans</i> -16	0,19	0,22	N.R.	N.R.	0,19	0,21
Total	2,24	1,96	1,97	3,17	2,04	2,81
Otros <i>cis</i>						
C12:1 <i>cis</i> -9	0,08	0,10	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
C14:1 <i>cis</i> -9	1,23	1,20	0,16	0,18	0,19	0,20
C17:1 <i>cis</i> -9	0,16	0,16	0,29	0,15	0,27	0,22
Otros <i>trans</i>						
C16:1 <i>trans</i> -9	0,06	0,03	0,11		0,08	0,13
C16:1 <i>trans</i> -11	0,13	0,16	0,04		0,03	0,03

¹Datos de Saliba *et al.* (2014).

²Datos de Gómez-Cortés *et al.* (2011), excepto C16:1 *trans*-9 y C16:1 *trans*-11 cuyo contenido ha sido tomado de Luna *et al.* (2009).

³Datos de Ollier *et al.* (2009).

N.R.: no reportado.

2.2.3. Ácidos grasos poliinsaturados

Los ácidos grasos *cis* poliinsaturados se encuentran en una baja proporción en la grasa láctea debido al proceso de biohidrogenación ruminal, estando representados casi en su totalidad por los ácidos linoleico (C18:2 *cis*-9,*cis*-12) y α -linolénico (C18:3 *cis*-9,*cis*-12,*cis*-15) (**Tablas 2.10 y 2.11**). Estos dos ácidos grasos no son sintetizados por el organismo y sus necesidades diarias tienen que ser suplidas por la dieta. Con raciones sin fuentes de grasa añadidas, el contenido de ácido linoleico en la grasa láctea se sitúa en torno a un 2-3%, mientras que el de ácido α -linolénico es menor de un 0,5%, excepto cuando los animales son alimentados con pastos frescos (Chilliard y Ferlay, 2004).

En el grupo de ácidos grasos diinsaturados, el ácido linoleico representa hasta tres cuartas partes del total de C18:2 no conjugados en vacas, ovejas y cabras (**Tabla 2.10**). El grupo de ácidos grasos diinsaturados *trans* presenta proporciones similares en ovejas y cabras y algo menores en vacas, aunque su variabilidad es elevada. Los ácidos grasos cuantitativamente más relevantes de este grupo son C18:2 *trans*-11,*cis*-15 entre los no conjugados y el ácido ruménico (C18:2 *cis*-9,*trans*-11) entre los conjugados (MacGibbon y Taylor, 2006; Park *et al.*, 2007).

Los C18:2 conjugados se agrupan generalmente bajo el nombre genérico de ácido linoleico conjugado, aunque su origen y propiedades son diversas. El ácido ruménico representa más de un 80% del total del grupo (**Tabla 2.10**). Este ácido graso y el C18:2 *trans*-7,*cis*-9 derivan mayoritariamente de la acción de la enzima Δ -9 desaturasa mamaria sobre los monoinsaturados C18:1 *trans*-11 y C18:1 *trans*-7 formados en el proceso de biohidrogenación ruminal y absorbidos en intestino delgado (Griinari y Bauman, 1999; Corl *et al.* 2002; Shingfield y Wallace, 2014). Este grupo de ácidos grasos son distintivos de los productos de los rumiantes y han adquirido gran relevancia desde que en la década de los años 80 del siglo XX se descubrió que poseían actividad anticarcinogénica (Ha *et al.*, 1989). Numerosos estudios posteriores han mostrado que poseen múltiples efectos potencialmente beneficiosos para la salud humana (incluyendo

reducción del riesgo de enfermedad cardiovascular, efecto antidiabetogénico y antiobesidad, y estimulación del sistema inmune) que los hace únicos (Shingfield *et al.*, 2008; Lock *et al.*, 2014).

Tabla 2.10. Contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de ácidos grasos diinsaturados de 18 átomos de carbono en la grasa láctea de animales que recibieron raciones sin grasa suplementaria.

Ácidos grasos	Vacas ¹	Ovejas ²	Cabras ³
No conjugados			
<i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12	2,34	2,43	2,13
<i>trans</i> -9, <i>trans</i> -12	0,03	0,04	0,01
<i>trans</i> -8, <i>cis</i> -13	0,12	0,08	N.R.
<i>trans</i> -9, <i>cis</i> -12	0,04	0,02	<0,01
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -12	0,11	0,03	0,08
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -13	0,25	N.R.	0,17
<i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15	0,12	0,10	0,13
<i>trans</i> -9, <i>trans</i> -14	N.R.	N.R.	0,01
<i>trans</i> -11, <i>trans</i> -15	N.R.	N.R.	0,02
<i>cis</i> -9, <i>cis</i> -15	N.R.	0,09	N.R.
<i>cis</i> -11, <i>cis</i> -15	0,06	N.R.	N.R.
Total	3,07	2,79	2,55
Conjugados			
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	0,44	0,59	0,83
<i>trans</i> -7, <i>cis</i> -9	0,05	N.R.	0,03
<i>trans</i> -9, <i>cis</i> -11	0,02	0,01	0,01
<i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12	0,04	0,01	<0,01
<i>trans</i> -11, <i>cis</i> -13	0,02	0,01	0,03
<i>trans</i> -12, <i>cis</i> -14	N.R.	0,01	<0,01
<i>trans</i> -11, <i>trans</i> -13	0,03	0,04	0,01
Otros <i>trans-trans</i>	0,04	0,01	0,04
Otros conjugados	0,02	0,10	0,02
Total	0,66	0,78	0,96

¹Datos de Cruz-Hernández *et al.* (2007).

²Datos de Gómez-Cortés *et al.* (2011).

³Datos de Bernard *et al.* (2009c).

N.R.: no reportado.

El grupo de ácidos grasos n-3 de la grasa láctea suele estar por debajo de un 1%, representando el ácido α -linolénico (*cis*-9 *cis*-12 *cis*-15 C18:3) casi la totalidad del mismo (**Tabla 2.11**). La mejora de las técnicas cromatográficas en la última década ha permitido la identificación y cuantificación de una variedad de isómeros del ácido α -linolénico en la grasa láctea con dobles enlaces *trans* en las posiciones 11, 13 y 15, relacionados con su proceso de biohidrogenación ruminal y presentes en cantidades muy pequeñas (Destailats *et al.*, 2005; Gómez-Cortés *et al.*, 2009b; Rego *et al.*, 2009; Turner *et al.*, 2015). Los que tienen doble enlaces conjugados están siendo investigados por su potenciales efectos beneficiosos para la salud humana (Degen *et al.*, 2011; Hennesy *et al.*, 2011; Miranda *et al.*, 2011).

Tabla 2.11. Contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de diversos ácidos grasos poliinsaturados en la grasa láctea con dos niveles de forraje y concentrado (F:C) y sin grasa suplementaria en la ración.

Ácidos grasos	Vacas ¹		Ovejas ²		Cabras ³	
	70:30	30:70	70:30	30:70	64:36	43:57
C18:3						
<i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15	0,38	0,30	0,46	0,55	0,66	0,41
<i>cis</i> -6, <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12	0,03	0,03	0,07	0,08	0,02	0,03
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15	0,03	0,02	0,04	0,02	0,04**	
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11, <i>trans</i> -15	N.R.	N.R.	0,01*		<0,01**	
C20:5 n-3	0,05	0,03	0,03	0,05	0,06	0,05
C22:6 n-3	<0,01	<0,01	0,03	0,02	0,02**	

¹Datos de Saliba *et al.* (2014).

²Datos de Gómez-Cortés *et al.* (2011), excepto C18:3 *cis*-9,*trans*-11,*trans*-15 cuyo contenido ha sido tomado de Gómez-Cortés *et al.* (2009a). *Ración con un 60% de forraje.

³Datos de Ollier *et al.* (2009), excepto C18:3 *cis*-9,*trans*-11,*cis*-15, C18:3 *cis*-9,*trans*-11,*trans*-15 y C22:6 n-3 cuyo contenido ha sido tomado de Martínez Marín *et al.* (2011a). **Ración con un 30% de forraje.

N.R.: no reportado.

El ácido α -linolénico puede ser convertido en el organismo a los ácidos eicosapentaenoico (C20:5 n-3) y docosahexaenoico (C22:6 n-3) mediante

desaturación y elongación. Estos ácidos grasos tienen múltiples funciones fisiológicas y son esenciales en la prevención de enfermedades crónicas (Simopoulos, 2008; Deckelbaum y Torrejón, 2012). La ausencia de los ácidos eicosapentaenoico y docosahexaenoico en los alimentos comunes consumidos por los rumiantes (Martínez Marín *et al.*, 2010a) y la limitada actividad de la enzima Δ -6 desaturasa en la glándula mamaria (Lock *et al.*, 2014) impiden que su contenido en la grasa láctea sea cuantitativamente relevante, con valores normalmente inferiores a un 0,1% (Chilliard *et al.*, 2000) (**Tabla 2.11**).

2.3. ORIGEN DE LOS ÁCIDOS GRASOS DE LA LECHE

El metabolismo lipídico de los rumiantes es muy distinto al de los monogástricos debido a las modificaciones que los microorganismos ruminales realizan sobre los lípidos y los sustratos lipogénicos (Buccioni *et al.*, 2012).

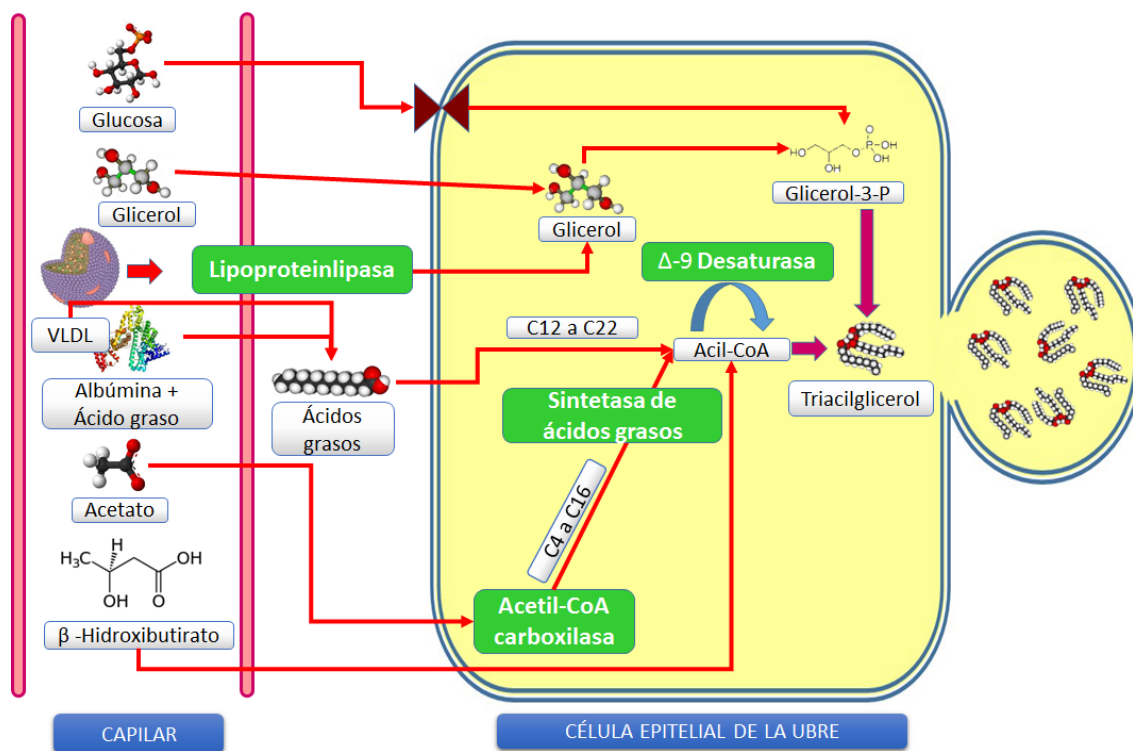


Figura 2.2. Síntesis y secreción de lípidos en la leche de los rumiantes (adaptado de Chilliard *et al.*, 2001).

Los ácidos grasos de leche se agrupan según su procedencia en dos grandes grupos: ácidos grasos sintetizados *de novo* en la glándula mamaria y ácidos grasos que son tomados preformados de la sangre (**Figura 2.2**). La síntesis *de novo* se realiza mayoritariamente a partir de acetato y, en menor medida, β -hidroxibutirato, ambos procedentes de la fermentación de los carbohidratos en el rumen, resultando en la formación de ácidos grasos saturados con una cadena lineal y un número par de átomos de carbono (de C4:0 a C16:0) (**Tabla 2.12**). La ubre también tiene capacidad de utilizar propionato y su derivado metilmalonato como sustrato para sintetizar *de novo* ácidos grasos de cadena lineal y un número impar de átomos de carbono y ácidos grasos ramificados metil sustituidos no terminales (Massart-Leën y Massart, 1981; French *et al.*, 2012). No obstante, la mayor parte de los ácidos grasos impares, los ácidos grasos ramificados iso y anteiso, una parte del ácido palmítico, y todos los ácidos grasos de cadena lineal con 18 o más átomos de carbono son tomados preformados por la ubre desde la sangre para su incorporación a la grasa láctea (Palmquist, 2006; Cozma *et al.*, 2013).

Tabla 2.12. Contribución (%) de las fuentes de ácidos grasos de la leche (a partir de distintas fuentes bibliográficas).

Ácido graso	Síntesis <i>de novo</i>	Preformado
C4:0 a C12:0	100	0
C14:0	95	5
C16:0	60	40
\geq C18	0	100

2.3.1. Ácidos grasos preformados

Los ácidos grasos que la ubre toma de la sangre suponen alrededor de un 60% de los que son incorporados a los triacilgliceroles. El origen de estos ácidos grasos es doble: intestinal y endógeno (Chilliard y Ferlay, 2004). Los ácidos grasos aportados por la reservas corporales de grasa solamente son relevantes en situaciones de balance energético negativo, se transportan en la sangre no

esterificados, unidos a albúmina, y son directamente disponibles para la ubre (Martínez Marín *et al.*, 2010b). La movilización de grasa corporal supone un fuerte aporte de los ácidos palmítico, esteárico y oleico a la glándula mamaria (Chilliard y Ferlay, 2004), así como de cantidades relevantes de ácidos grasos ramificados de 17 átomos de carbono (Craninx *et al.*, 2008b).

Los ácidos grasos procedentes del intestino delgado son la principal fuente de ácidos grasos preformados para la glándula mamaria. Estos ácidos grasos se encuentran esterificados en triacilglicérols que son transportados en quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad, y quedan disponibles para la glándula mamaria por la acción de la enzima lipoproteinlipasa. A su vez, los ácidos grasos que llegan al intestino delgado proceden de la ración, intactos o tras ser modificados en el proceso de biohidrogenación ruminal, y de la síntesis *de novo* microbiana (Vlaeminck *et al.*, 2006a; Shingfield y Wallace, 2014).

2.3.1.1. Ácidos grasos de los alimentos de los rumiantes

En los lípidos de los alimentos comunes de los rumiantes predominan los ácidos grasos insaturados de 18 átomos de carbono (**Tabla 2.13**). La suma de los ácidos α -linolénico, linoleico y oleico es un 72, 70 y 69% del total de ácidos grasos en los forrajes verdes, ensilados y henificados, respectivamente, siendo el ácido α -linolénico claramente mayoritario (Glasser *et al.*, 2013). Estos autores encontraron en un metaanálisis de 58 trabajos publicados que el henificado reduce el contenido de ácido α -linolénico del forraje entre 7 y 13 g/100 de ácidos grasos en función de la calidad de elaboración, mientras que el ensilado no tiene efecto significativo. El cambio debido al henificado se relacionó con una reducción de los ácidos grasos totales y un aumento de los ácidos palmítico, esteárico y oleico.

De acuerdo con los datos reportados por FEDNA (2016), el ácido linoleico es mayoritario, con valores en torno a un 50%, en la grasa de los cereales, sus subproductos y las proteaginosas. El perfil de ácidos grasos de las semillas oleaginosas y sus harinas de extracción es variable en función de la especie

botánica. Respecto a los aceites, pueden distinguirse dos grandes grupos: aquellos ricos en ácidos grasos saturados de cadena media (coco y palma) y aquellos en que predominan los ácidos oleico, linoleico y α -linolénico (colza, soja y girasol, y lino, respectivamente). Los ácidos grasos poliinsaturados de 20 y 22 carbonos solamente se encuentran en cantidades importantes en los lípidos de los alimentos de origen marino (**Tabla 2.13**).

Tabla 2.13. Perfil de ácidos grasos (g/100 g de ácidos grasos) en forrajes, concentrados y aceites.

	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	≥C20
Forrajes¹								
Frescos	1,0	16,9	1,0	2,1	3,8	15,8	52,6	1,7
Ensilados	0,9	18,7	0,8	2,1	3,4	16,6	49,8	1,8
Henificados	1,0	21,9	1,7	2,4	4,2	17,5	47,1	N.R.
Concentrados²								
Cebada	0,0	23,0	0,0	0,0	12,7	56,3	6,3	0,0
Maíz	0,0	11,1	0,0	1,9	26,9	55,9	0,9	0,0
Salvado trigo	0,0	19,0	1,2	1,2	15,1	57,1	5,2	1,2
Altramuz dulce	0,4	7,1	0,4	4,9	31,0	47,9	4,9	3,2
Guisantes	0,0	11,6	0,0	2,7	24,1	47,3	10,7	1,8
Haba caballar	0,0	14,5	0,0	2,4	25,5	49,7	3,6	1,2
Semilla algodón	1,0	24,0	1,0	2,0	19,0	51,0	0,2	1,0
Semilla colza 00	0,2	5,0	0,4	2,0	56,0	22,0	9,0	4,0
Semilla girasol	0,3	6,5	0,3	4,0	22,0	65,0	0,4	0,3
Haba soja tostada	0,2	11,0	0,2	4,0	22,0	54,0	8,0	0,4
Harina colza 00	0,0	4,9	0,7	2,1	55,9	21,7	9,1	4,2
Harina girasol 34	0,0	6,7	0,0	4,2	21,8	64,7	0,0	0,0
Harina soja 44	0,0	11,3	0,0	3,8	21,8	54,1	8,3	0,8
Aceites²								
Palma	1,0	43,0	0,3	4,8	40,0	10,0	0,0	0,0
Coco	77,0	9,0	0,0	2,5	7,0	1,5	0,0	0,0
Colza	0,0	5,0	0,3	2,2	57,5	20,5	9,0	4,4
Girasol	0,0	6,4	0,0	5,0	22,6	63,0	0,5	1,1
Soja	0,0	9,5	0,2	4,0	22,0	54,0	7,3	1,1
Lino	0,0	5,5	0,0	4,0	19,0	15,5	54,0	1,0
Pescado nacional	3,8	15,5	4,0	4,3	13,5	1,8	1,1	45,0

¹A partir de Glasser *et al.* (2013).

²A partir de FEDNA (2016).

N.R.: No reportado.

La preponderancia de los ácidos grasos insaturados en los alimentos de los rumiantes determina que las bacterias ruminales estén permanentemente adaptadas para actuar rápidamente sobre ellos (Fievez *et al.*, 2007). Esta acción se justificaría por la toxicidad que los ácidos grasos insaturados ejercen sobre las bacterias (Maia *et al.*, 2007), aunque el mecanismo de acción no está completamente esclarecido (Maia *et al.*, 2010).

2.3.1.2. Metabolismo lipídico en el rumen y ácidos grasos microbianos

En el rumen, los microorganismos llevan a cabo la lipólisis y biohidrogenación de los dobles enlaces presentes en los ácidos grasos insaturados de los alimentos consumidos, así como la síntesis *de novo* de ácidos grasos a partir de diversos sustratos.

Lipólisis y biohidrogenación ruminal

Los lípidos de los alimentos sufren dos importantes transformaciones en el rumen: lipólisis y biohidrogenación. La lipólisis se refiere a la liberación de los ácidos grasos esterificados en los triacilgliceroles, glicolípidos y fosfolípidos por hidrólisis, y la biohidrogenación consiste en la reducción de los dobles enlaces existentes en los ácidos grasos insaturados liberados (Martínez Marín *et al.*, 2010a).

La lipólisis es debida principalmente a enzimas lipasas bacterianas que se localizan extracelularmente, así como a fosfolipasas y galactolipasas, principalmente bacterianas pero también vegetales. El número de especies bacterianas capaz de hidrolizar los ésteres es bajo y su actividad muy específica. Los protozoos tienen actividad lipasa, aunque su contribución es menor que la de las bacterias, mientras los hongos no la muestran (Lourenço *et al.*, 2010; Buccioni *et al.*, 2012). El glicerol y la galactosa libres son rápidamente fermentados, el primero mayoritariamente a ácido propiónico mientras que la segunda lo es a ácido acético. A partir de 36 tratamientos experimentales de 8 trabajos de investigación, Moate *et al.* (2004) estimaron que la lipólisis de 25

alimentos (incluyendo forrajes, alimentos no forrajeros y fuentes de grasa) fue en promedio un 82%, con valores superiores a un 70% en 20 de los alimentos estudiados. Dado que la biohidrogenación requiere que los ácidos grasos estén libres en el medio ruminal, la lipólisis se considera la etapa limitante del proceso. La tasa de lipólisis puede verse reducida por un bajo pH ruminal, como el observado cuando se suministran raciones ricas en almidón, o por el consumo de alimentos marinos, por su aporte de ácidos eicosapentaenoico y docosahexaenoico (Martínez Marín *et al.*, 2010a).

Los ácidos grasos saturados que son liberados por lipólisis en el rumen no sufren modificaciones, pero los insaturados son rápidamente isomerizados e hidrogenados. Se cree que las bacterias son las principales responsables de la biohidrogenación, la contribución de los hongos es muy inferior y la de los protozoos se considera insignificante (Harfoot y Hazlewood, 1997). De acuerdo con dichos autores, las bacterias involucradas en la biohidrogenación ruminal pueden clasificarse en dos grandes grupos (**Figura 2.3**).

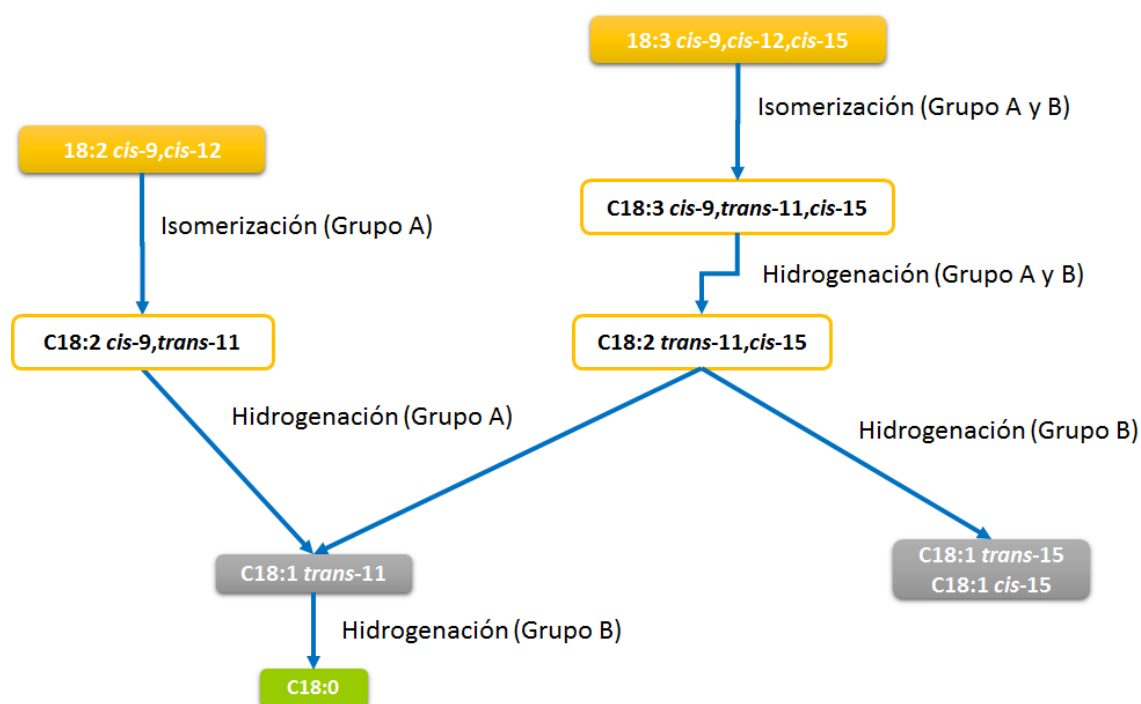


Figura 2.3. Vías principales de la biohidrogenación ruminal y grupos de bacterias responsables (Harfoot y Hazlewood, 1997).

El grupo A es responsable principalmente de la biohidrogenación de los ácidos linoleico y α -linolénico hasta C18:1 *trans*-11, vía C18:2 *cis*-9,*trans*-11 y C18:2 *trans*-11,*cis*-15, respectivamente. Las bacterias del grupo B convierten los ácidos grasos monoinsaturados a C18:0 y tienen la capacidad de producir C18:1 *trans*-15 y C18:1 *cis*-15 a partir de C18:2 *trans*-11,*cis*-15, aunque se desconoce si alguna especie bacteriana los convierte a C18:0. Solamente se ha identificado un limitado número de especies en ambos grupos. Las bacterias responsables de la biohidrogenación son mayoritariamente celulolíticas, localizadas en la fase sólida. Entre ellas destacan *Butyrivibrio fibrisolvens* y *Butyrivibrio hungatei*, que pertenecen al grupo A, mientras que la única especie del grupo B identificada hasta la fecha es *Butyrivibrio proteoclasticus* (Shingfield y Wallace, 2014). Las vías de biohidrogenación mencionadas son las principales, pero existen numerosas vías alternativas (**Figuras 2.4 a 2.6**).

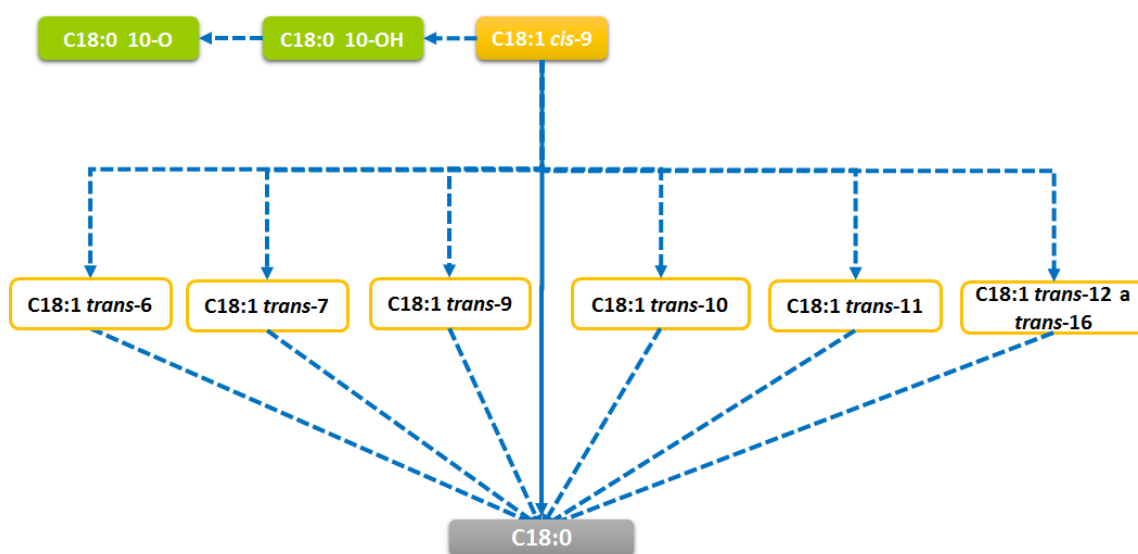


Figura 2.4. Rutas de la biohidrogenación ruminal del ácido oleico. Las flechas continuas señalan las rutas principales, mientras que las flechas discontinuas indican las rutas de formación de isómeros minoritarios (Shingfield y Wallace, 2014).

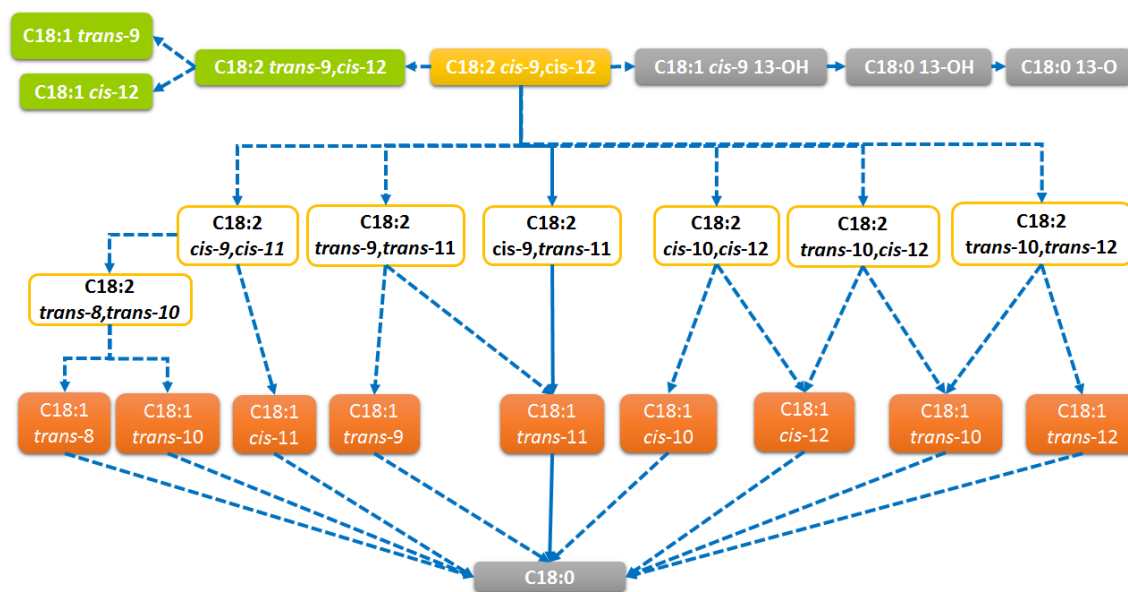


Figura 2.5. Rutas de la biohidrogenación ruminal del ácido linoleico. Las flechas continuas señalan las rutas principales, mientras que las flechas discontinuas indican las rutas de formación de isómeros minoritarios (Shingfield y Wallace, 2014).

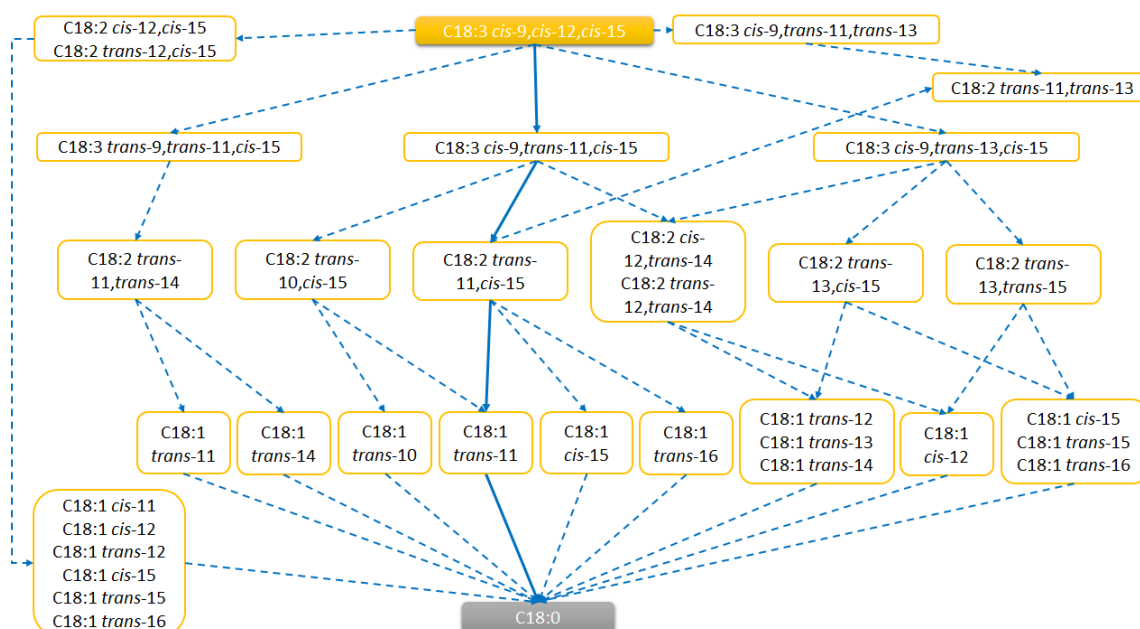


Figura 2.6. Rutas de la biohidrogenación ruminal del ácido α-linolénico. Las flechas continuas señalan las rutas principales, mientras que las flechas discontinuas indican las rutas de formación de isómeros minoritarios (Shingfield y Wallace, 2014).

Entre dichas vías destacan las que conducen a la formación de C18:1 *trans*-10, a partir de ácido linoleico vía C18:2 *trans*-10,*cis*-12 (Griinari y Bauman, 1999; McKain *et al.*, 2010), o a partir de ácido α -linolénico vía C18:3 *trans*-10,*cis*-12,*cis*-15 y C18:2 *trans*-10,*cis*-15 (Griinari y Bauman, 1999; Shingfield y Wallace, 2014) (**Figura 2.7**). Un bajo pH ruminal y un elevado contenido de almidón y ácidos grasos insaturados en la dieta se consideran requisitos necesarios para que estas vías sean relevantes (Shingfield y Wallace, 2014).

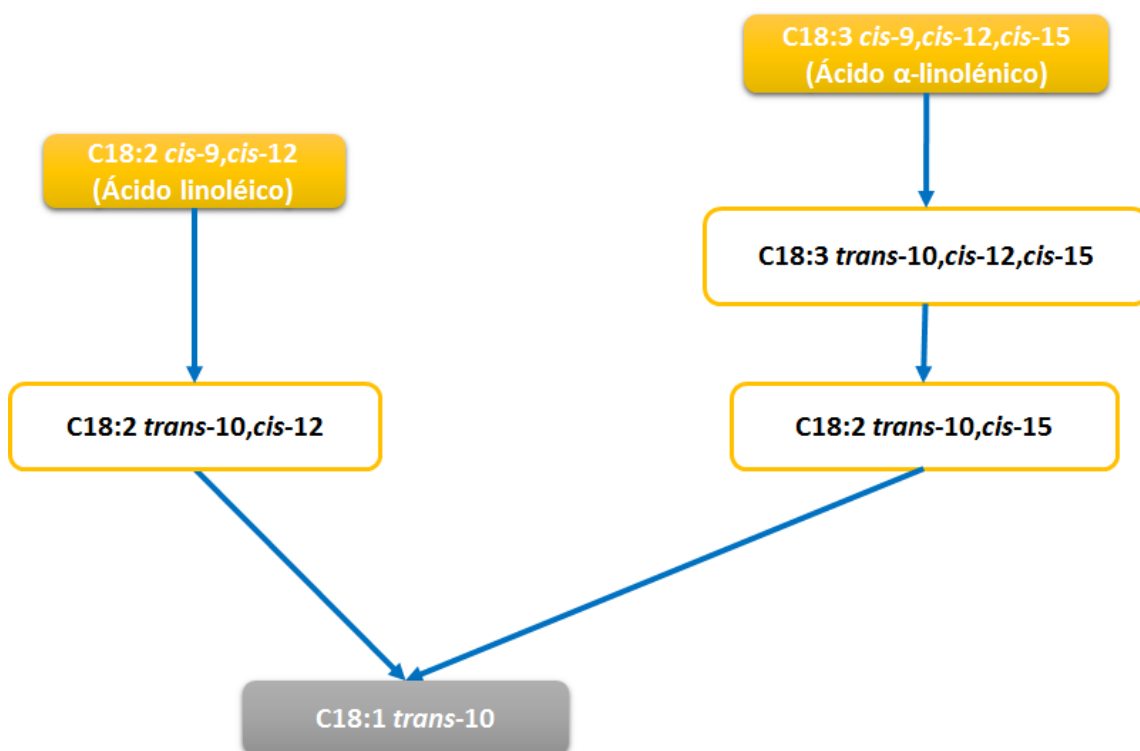


Figura 2.7. Rutas alteradas de la biohidrogenación ruminal (Griinari y Bauman, 1999).

Debido a la biohidrogenación ruminal, la mayor parte de los ácidos oleico, linoleico y α -linolénico aportados por la ración se convierten en ácido esteárico. Sin embargo, el proceso no es completamente eficiente y resulta en la acumulación ruminal de numerosos ácidos grasos mono y poliinsaturados característicos (isómeros *cis* y *trans* de los ácidos oleico, linoleico y α -linolénico) (Or-Rashid *et al.*, 2009; Shingfield y Wallace, 2014), cuya presencia en la grasa láctea se puede relacionar directamente con los ácidos grasos insaturados

mayoritarios en la ración consumida por los animales (Bodas *et al.*, 2012, Martínez Marín *et al.*, 2015a). La eficacia de la biohidrogenación se relaciona negativamente, además de con la necesidad de la lipólisis previa, con todas aquellas características de la ración que pueden inducir una bajada del pH ruminal (alto contenido de almidón, bajo contenido de forraje, pequeño tamaño de partícula), así como con el aporte de cantidades elevadas de ácidos grasos insaturados y otros factores (**Figura 2.8**).

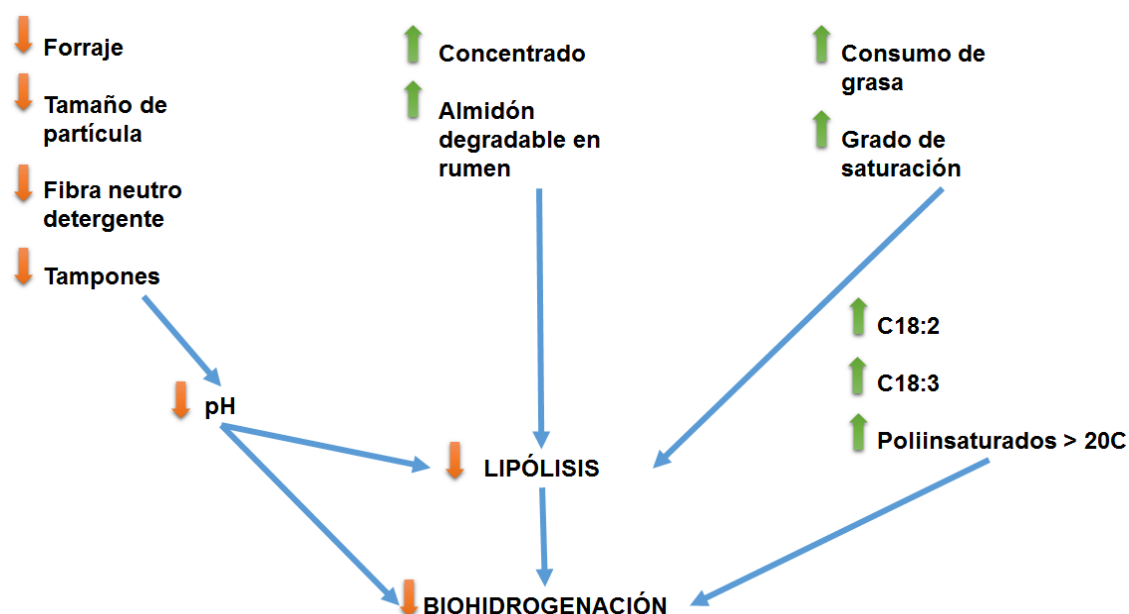


Figura 2.8. Factores que afectan a la lipólisis y la biohidrogenación ruminal (Martínez Marín *et al.*, 2010a).

Síntesis microbiana de ácidos grasos

Las bacterias ruminales contienen 50-90 g/kg de lípidos en su materia seca, y 40 y 50 g/kg de ácidos grasos poliinsaturados e impares y ramificados, respectivamente, en los ácidos grasos totales, que se localizan preferentemente en las membranas celulares (Buccioni *et al.*, 2012). Los ácidos grasos impares de cadena media (C13:0, C15:0, C17:0) son sintetizados utilizando ácido propiónico como sustrato, aunque C15:0 y C17:0 también pueden originarse por la α -oxidación de C16:0 y C18:0, respectivamente. Los ácidos grasos

ramificados iso de cadena par se sintetizan a partir del ácido isobutírico, mientras que los iso y anteiso de cadena impar se producen cuando los sustratos utilizados son los ácidos isovalérico y 2-metil-butírico, respectivamente (Vlaeminck *et al.*, 2006a) (**Figura 2.9**). Los protozoos contienen menos ácidos grasos impares y ramificados totales que las bacterias (110 vs 160 g/kg de ácidos grasos totales), aunque presentan una mayor proporción de C16:0 iso y C17:0 anteiso (Or-Rashid *et al.*, 2007). La concentración (mg/g materia orgánica bacteriana) de ácidos grasos impares y ramificados en las bacterias de la fase sólida y líquida del rumen no es diferente, pero la relación entre los ácidos grasos impares de cadena lineal y los ácidos grasos ramificados tiene un valor mayor en las bacterias de la fase líquida (Bessa *et al.*, 2009).

La ración consumida por los animales tiene una fuerte influencia en la síntesis microbiana de ácidos grasos. El aumento de la proporción de forraje en la ración causa una reducción de la longitud de cadena de los ácidos grasos saturados y un aumento de los ácidos grasos impares y ramificados sintetizados *de novo* por las bacterias (Bas *et al.*, 2003). La inclusión de fuentes de grasa en la ración ocasiona una reducción del contenido de ácidos grasos sintetizados *de novo* en las bacterias, debido a una utilización preferente de los ácidos grasos preformados disponibles para la síntesis de fosfolípidos (Demeyer *et al.*, 1978) y la constitución de reservas citoplasmáticas (Bauchart *et al.*, 1990). El aumento de los contenidos bacterianos de ácidos grasos impares y ramificados cuando la ración no contiene grasa añadida podría explicarse porque su menor punto de fusión, en comparación con los ácidos grasos saturados de igual número de átomos de carbono, ayudaría a compensar la escasez de ácidos grasos poliinsaturados preformados y mantener la fluidez de los lípidos necesaria para la función de las membranas celulares (Bas *et al.*, 2003). De acuerdo con lo anterior, la proporción de los ácidos grasos impares y ramificados en los lípidos microbianos que llegan al intestino delgado puede considerarse un reflejo de las poblaciones microbianas del rumen y del efecto que las características de la ración consumida tienen sobre ellas (Vlaeminck *et al.*, 2006a).

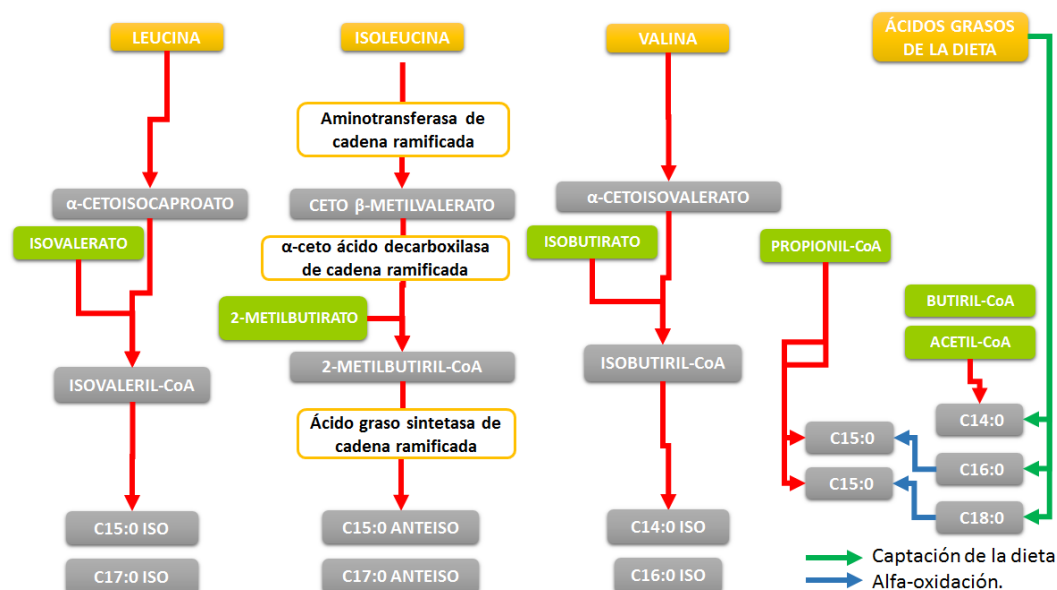


Figura 2.9. Síntesis microbiana de ácidos grasos impares y ramificados (Vlaeminck *et al.*, 2006a).

2.3.2. Síntesis, elongación y desaturación de ácidos grasos en la glándula mamaria.

2.3.2.1. Síntesis *de novo*

La síntesis *de novo* de ácidos grasos requiere la participación de dos enzimas clave, acetil-CoA carboxilasa y sintetasa de ácidos grasos, y la disponibilidad de unidades de carbono y poder reductor en la forma de NADPH+H⁺ (Chilliard y Ferlay, 2004). En los rumiantes, el acetato y el β -hidroxibutirato son los proveedores principales de unidades de carbono, mientras que la glucosa y el acetato son los principales proveedores de poder reductor (Bauman y Davies, 1974). El primer paso en la síntesis es la activación del acetato a acetil-CoA por la enzima acetil-CoA sintetasa. A continuación, la enzima acetil-CoA carboxilasa condensa dos moléculas de acetil-CoA para formar malonil-CoA. La elongación se realiza por la enzima sintetasa de ácidos grasos, mediante reacciones sucesivas de condensación decarboxilativa de moléculas de acetil-CoA con la malonil-CoA, hasta una longitud máxima de 16 átomos de carbono (Palmquist,

2006). El paso limitante es la actividad de la enzima acetil-CoA carboxilasa para síntesis de malonil-CoA y todo el proceso está estrechamente regulado por la enzima sintetasa de ácidos grasos (Nguyen *et al.*, 2008). La utilización de butiril-CoA en el paso inicial no requiere la participación de la enzima acetil-CoA carboxilasa. La mitad del ácido butírico de la grasa láctea y cantidades menores de los ácidos caproico, caprílico y cáprico derivan del β -hidroxibutirato por dicha vía (Palmquist, 2006). Si el sustrato inicial es el propionato, su derivado el metilmalonato, o ácidos grasos volátiles ramificados (isovalérico, isobutírico y 2-metilbutírico), los productos finales serán ácidos grasos impares, metil sustituidos no terminales, o iso y anteiso, respectivamente (Palmquist, 2006). El hígado utiliza alrededor de un 94% del propionato que circula por la vena porta, pero el aumento del flujo portal de propionato se traduce en un aumento de su disponibilidad para la síntesis de ácidos grasos impares (Vlaeminck *et al.*, 2015). La respuesta al aumento de la disponibilidad de propionato en la glándula mamaria resulta en una mayor síntesis de C15:0 que de C17:0 (Massart-Leën *et al.*, 1983; French *et al.*, 2012), mientras que la síntesis de ácidos grasos metil sustituidos no terminales se ha observado en cabras (Massart-Leën *et al.*, 1983), pero no en vacas (Croom *et al.*, 1981). La síntesis mamaria de ácidos grasos iso y anteiso no responde al aumento de la disponibilidad de propionato o ácidos grasos volátiles ramificados (Massart-Leën *et al.*, 1983; French *et al.*, 2012).

2.3.2.2. Elongación

El principal producto de la síntesis *de novo* es el ácido palmítico. La elongación más allá de 16 átomos de carbono ocurre en los microsomas, utilizando malonil-CoA, pero esta no es una vía relevante para la incorporación de ácidos grasos de 18 átomos de carbono a la grasa láctea (Palmquist, 2006). Los resultados de Vlaeminck *et al.* (2015) indican que C15:0 es elongado a C17:0 en la glándula mamaria, mientras que la elongación de C15:0 iso y C15:0 anteiso a C17:0 iso y C17:0 anteiso, respectivamente, ocurre en tejidos extramamarios. La elongación de C16:1 *cis*-9 a C18:1 *cis*-11 y C16:1 *trans*-9 a C18:1 *trans*-11 se ha observado en adipocitos bovinos (Burns *et al.*, 2012; Kadegowda *et al.*,

2013), lo que sugiere que también puede ocurrir elongación de C14:1 *cis*-9 a C16:1 *cis*-11 y C18:1 *cis*-9 a C20:1 *cis*-11 (Bernard *et al.*, 2015), pero la significación de dichas vías de elongación en la glándula mamaria no ha sido reportada.

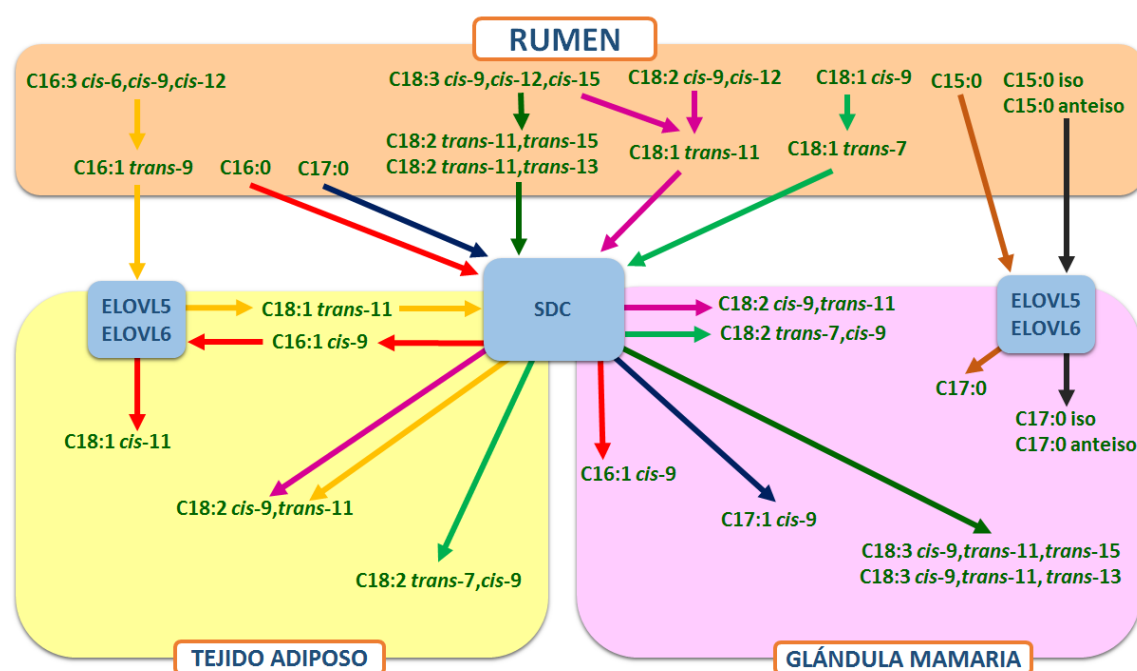


Figura 2.10. Origen de algunos ácidos grasos presentes en la grasa láctea de los rumiantes (a partir distintas fuentes de la bibliografía).

Es bien sabido que la elongación se ve afectada de forma directa por el suministro de fuentes de grasa a los animales (Chilliard y Ferlay, 2004). De hecho, metarregresiones de experimentos realizados con cabras y ovejas muestran que existe una relación lineal negativa entre el consumo diario de grasa y los porcentajes de los ácidos grasos sintetizados *de novo* en la grasa láctea y que el efecto es mayor en los de mayor longitud de cadena (Martínez Marín *et al.*, 2015b; Martínez Marín *et al.*, 2016). El efecto negativo observado es generalmente menor cabras que en vacas y ovejas (Martínez Marín *et al.*, 2013e; Bernard *et al.*, 2013b). Aunque un efecto negativo de los ácidos grasos de la ración sobre la fermentación ruminal no puede descartarse, los resultados de investigaciones *in vitro* citados por Bauman y Davies (1974) indican que la

reducción del valor de la relación entre las actividades de las acetil-CoA carboxilasa y sintetasa de ácidos grasos cambia el patrón de ácidos grasos sintetizados *de novo* hacia los de cadena más corta (Martínez Marín *et al.*, 2012). En este sentido, Bernard *et al.* (2009b) observaron en cabras que el valor de la relación entre las actividades de las enzimas acetil-CoA carboxilasa y sintetasa de ácidos grasos disminuyó un 32 y 40% en cabras cuya ración incluyó aceite de girasol normal o lino, respectivamente, en relación con las cabras que consumieron la ración control, lo que se acompañó con una menor producción diaria de ácido grasos de cadena media sin efectos negativos sobre los ácidos grasos de cadena corta ni la producción diaria de grasa láctea.

2.3.2.3. Δ -9 desaturación

La enzima Δ -9 desaturasa mamaria puede introducir un doble enlace entre los carbonos 9 y 10 en algunos ácidos grasos tanto sintetizados *de novo* como preformados pares, impares y *trans* (**Figura 2.10**) (Fievez *et al.*, 2003; Bernard *et al.*, 2010; Bichi *et al.*, 2012). Se cree que la Δ -9 desaturación es un mecanismo de la glándula mamaria para mantener la fluidez de la leche, siendo especialmente importante en rumiantes porque, debido a la biohidrogenación ruminal, el ácido esteárico es el principal ácido graso absorbido en intestino delgado y además se absorben cantidades relevantes de ácidos grasos *trans*. Tanto el ácido esteárico como los ácidos grasos *trans* tienen un punto de fusión muy elevado (**Tabla 2.14**). La regulación de la fluidez de la grasa láctea se conseguiría equilibrando la proporción de enlaces *cis* y *trans* así como de la longitud de cadena de los ácidos grasos incorporados a los triacilglicerolos (Bernard *et al.*, 2013a). De hecho, la utilización de los ácidos grasos de 18 átomos de carbono captados por la glándula mamaria para la síntesis de triacilglicerolos requiere que exista un equilibrio con los ácidos grasos de cadena más corta (Glasser *et al.*, 2008a). Asimismo, la alteración de la biohidrogenación ruminal con el consiguiente aumento de la disponibilidad mamaria de C18:1 *trans* en detrimento de la de ácido esteárico susceptible de ser desaturado podría explicar la caída de la grasa láctea observada bajo ciertas condiciones de alimentación (Bernard *et al.*, 2013a).

Tabla 2.14. Punto de fusión de algunos ácidos grasos de la grasa láctea.

	°C
C4:0	-7,9
C6:0	-3,4
C8:0	16,7
C10:0	31,6
C12:0	44,2
C14:0	53,9
C14:1 <i>cis</i> -9	-4,0
C16:0	63,1
C16:1 <i>cis</i> -9	1,0
C16:1 <i>trans</i> -9	31,0
C18:0	69,6
C18:1 <i>cis</i> -9	16,0
C18:1 <i>trans</i> -9	45,0
C18:1 <i>trans</i> -11	44,0
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12	-5,0
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	-4,5
C18:3 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15	-11,0

Fuente: <http://lipidbank.jp/>

El principal sustrato para la Δ -9 desaturación es el ácido esteárico resultando en la producción de ácido oleico. Otros ácidos grasos saturados de 10 a 17 átomos de carbono también sirven de sustrato, así como ácidos grasos C18:1 *trans* y C18:2 *trans* (Palmquist, 2006). Entre los ácidos grasos impares, la Δ -9 desaturación de C17:0 es más importante que la de C15:0 (Fievez *et al.*, 2012). Respecto a los ácidos grasos *trans*, la mayor parte del ácido ruménico y la práctica totalidad del ácido C18:2 *trans*-7,*cis*-9 son de origen mamario por Δ -9 desaturación del ácido vaccénico (**Figura 2.11**) y C18:1 *trans*-7, respectivamente (Griinari y Bauman, 1999; Corl *et al.*, 2002). Adicionalmente, los resultados de varios estudios sugieren que C18:2 *trans*-11,*trans*-13 y C18:2 *trans*-11,*trans*-15 sirven de sustrato para la producción de C18:3 *cis*-9,*trans*-11,*trans*-13 y C18:3 *cis*-9,*trans*-11,*trans*-15 (Lerch *et al.*, 2012; Martínez Marín *et al.*, 2012).

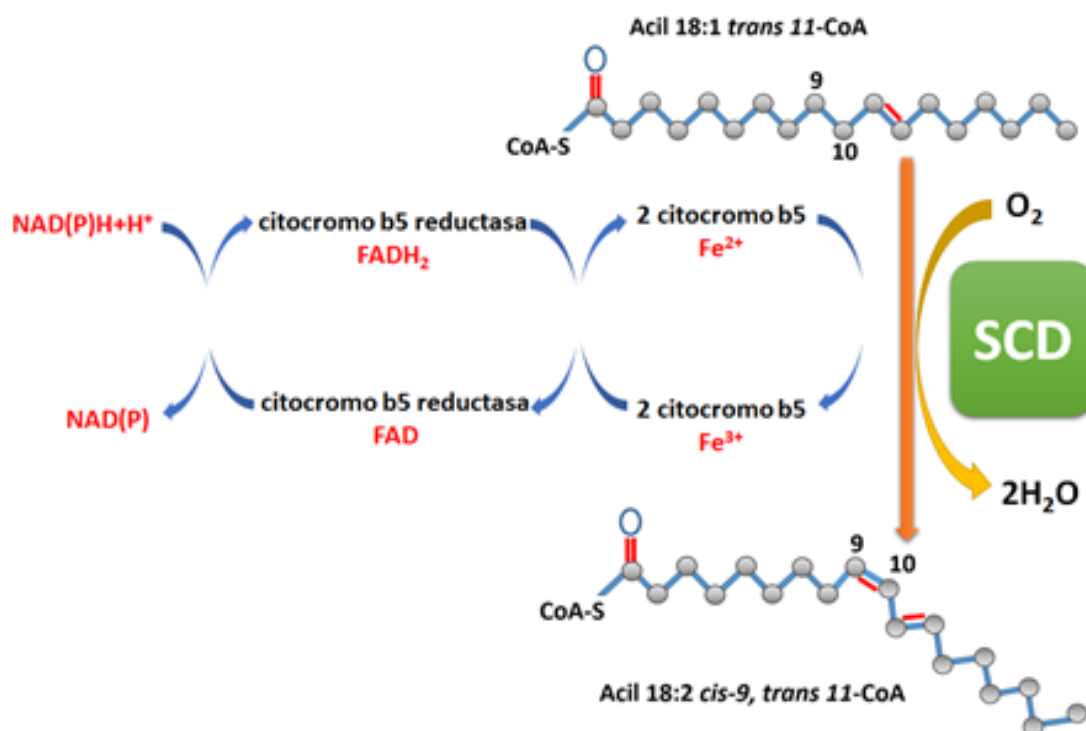


Figura 2.11. Representación esquemática del mecanismo de acción de la enzima estearoil-CoA desaturasa (SCD).

La actividad de la enzima Δ -9 desaturasa es inhibida por los ácidos ciclopropanoicos, los ácidos grasos poliinsaturados y algunos C18:2 con dobles enlaces en posición *trans* (Martínez Marín *et al.*, 2010b). La estimación de la Δ -9 desaturación puede realizarse mediante la valoración de la relación producto/sustrato en la leche (Kelsey *et al.*, 2003), pero la única estimación fiable corresponde a la del par C14:0/C14:1 *cis*-9, porque su presencia en la leche se debe casi exclusivamente a la síntesis *de novo* de C14:0 y su posterior Δ -9 desaturación (Bernard *et al.*, 2013a). En el caso de ácidos grasos con un origen dual (captado preformado o sintetizado *de novo* en la ubre), este método no permite cuantificar la proporción de producto verdaderamente originado por la actividad de la enzima Δ -9 desaturasa en la glándula mamaria, siendo preferible el cálculo mediante regresión (Palmquist *et al.*, 2004).

Estudios realizados *in vivo* muestran que un 80, 63 y 80-84 % del ácido oleico de la grasa láctea procede del ácido esteárico en vacas, ovejas y cabras, respectivamente, y que un 64-97, 74 y 63-73% del ácido ruménico deriva del ácido vaccénico en vacas, ovejas y cabras, respectivamente. Respecto a la tasa de Δ -9 desaturación en la glándula mamaria, las estimaciones son un 54-59% para el ácido esteárico en vacas, y un 20-30% y en torno a un 30% para el ácido vaccénico en vacas y cabras, respectivamente (Bernard *et al.*, 2013a).

2.4. EFECTOS DEL TIPO DE RACIÓN SOBRE LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE Y LA GRASA LÁCTEA

2.4.1. Efectos de la grasa en la ración sobre la producción y composición de la leche

Cuando se incluyen fuentes de grasa en la ración de la hembras rumiantes se observa que la respuesta de la producción de leche es curvilínea: un aporte bajo de grasa incrementa la producción por un mayor consumo de energía; por el contrario, la disminución de la producción cuando el consumo de grasa es elevado puede relacionarse con la reducción de la energía disponible debido al efecto negativo sobre la digestión ruminal y/o el consumo de materia seca (Martínez Marín *et al.*, 2013d). Estos autores señalaron que el consumo de semillas y aceites vegetales no tiene efectos negativos sobre el porcentaje de grasa láctea en ovejas y cabras a diferencia de lo observado en vacas, mientras que repercute negativamente en el porcentaje de proteína láctea en vacas y ovejas pero no en cabras. En coincidencia con lo anterior, el metaanálisis realizado por Rabiee *et al.* (2012) mostró que la inclusión de semillas oleaginosas en la ración de vacas reduce el consumo de materia seca y los porcentajes de grasa y proteína. En otro metaanálisis, Martínez Marín *et al.* (2015a) observaron que la respuesta de ovejas y cabras al consumo de semillas y aceites vegetales muestra algunas diferencias, siendo la más notable el efecto negativo sobre el contenido de proteína de la leche en las primeras (**Tabla 2.15**).

Tabla 2.15. Efecto de la inclusión de semillas y aceites vegetales en la ración de ovejas y cabras sobre los resultados productivos (Martínez Marín *et al.*, 2015a).

	Ovejas		<i>P</i>	Cabras		<i>P</i>
	Control	Grasa		Control	Grasa	
Leche, g/d	1516	1571	0,08	2331	2305	0,68
Grasa, %	6,39	6,50	0,31	4,11	4,43	<0,001
Proteína, %	5,41	5,24	<0,01	3,28	3,31	0,43
Grasa+proteína, %	11,80	11,74	0,69	7,41	7,76	<0,01

2.4.2. Efectos de la grasa en la ración sobre la composición de la grasa láctea

El efecto de la adición de fuentes de grasa vegetales a la ración de las hembras rumiantes sobre los contenidos de los ácidos grasos de la grasa láctea ha sido revisado en profundidad por Glasser *et al.* (2008a) y Martínez Marín *et al.* (2013e). De acuerdo con Martínez Marín *et al.* (2013e), la inclusión de semillas o aceites en la ración modifica extensamente el perfil de ácidos grasos de la grasa láctea y los cambios ocurren en el mismo sentido en vacas, ovejas y cabras. Algunos de los efectos observados son comunes a todos los aceites y semillas con independencia del ácido graso mayoritario que aportan a la ración (oleico, linoleico o α -linolénico): no suelen afectar negativamente al contenido de ácido butírico, reducen el de ácidos grasos saturados de cadena media, y aumentan el de ácidos grasos insaturados (**Tabla 2.16**). Los aceites y semillas ricos en ácido linoleico aumentan el contenido de los ácidos vaccénico, ruménico y C18:1 *trans*-10, así como el valor de la relación entre los ácidos grasos n-6 y n-3 en la grasa láctea. El aceite y la semilla de lino también aumentan el contenido de los ácidos vaccénico y ruménico en la grasa láctea, pero no afectan al contenido de C18:1 *trans*-10 y reducen el valor de la relación entre los ácidos grasos n-6 y n-3. Por tanto, en animales estabulados el efecto más favorable desde el punto de vista de la salud humana se consigue con la inclusión de grasa de lino en la ración (Martínez Marín *et al.*, 2012).

Tabla 2.16. Efecto del nivel de inclusión en la ración de tres aceites vegetales con diferente grado de insaturación sobre los contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de algunos grupos de ácidos grasos en la grasa láctea de cabras (a partir de Martínez Marín *et al.*, 2012).

Aceite añadido al control	Control	g/d de aceite			P lineal
		30	48	66	
Girasol alto oleico					
Ácidos grasos saturados	78,07	71,20	71,52	66,35	<0,001
Ácidos grasos monoinsaturados	18,75	25,22	25,12	28,85	<0,001
Ácidos grasos poliinsaturados	3,18	3,58	3,36	4,80	<0,05
C18:1 <i>trans</i>	2,14	3,21	4,81	6,57	<0,001
C18:2 conjugados	0,56	0,75	0,82	0,89	N.S.
n-6/n-3 ¹	5,79	5,99	6,23	8,93	<0,001
Girasol normal					
Ácidos grasos saturados	78,33	71,49	70,55	64,16	<0,001
Ácidos grasos monoinsaturados	18,18	24,53	25,73	29,85	<0,001
Ácidos grasos poliinsaturados	3,50	3,98	3,72	5,99	<0,01
C18:1 <i>trans</i>	1,96	4,11	5,07	10,02	<0,01
C18:2 conjugados	0,47	1,11	0,98	1,95	<0,01
n-6/n-3 ¹	6,30	5,90	6,70	11,46	<0,05
Lino					
Ácidos grasos saturados	77,70	73,79	68,35	64,34	<0,01
Ácidos grasos monoinsaturados	19,12	21,95	24,93	27,38	<0,01
Ácidos grasos poliinsaturados	3,18	4,26	6,72	8,29	<0,01
C18:1 <i>trans</i>	2,55	5,05	6,22	8,83	<0,01
C18:2 conjugados	0,58	0,95	1,82	2,22	<0,01
n-6/n-3 ¹	6,03	2,88	2,30	1,85	<0,001

N.S.: no significativo

¹Relación entre la suma de los ácidos grasos n-6 y los n-3.

Otras posibles estrategias para modificar el perfil lipídico de la leche se incluyen en las revisiones de Shingfield *et al.* (2013) y Nudda *et al.* (2014). El pasto verde es una fuente excelente de ácido α -linolénico y la leche de los rumiantes alimentados sobre pastos contiene una menor proporción de ácidos grasos saturados y mayores niveles de los ácidos vaccénico, ruménico y α -linolénico. Las especies predominantes en los pastos (leguminosas vs gramíneas), su grado de madurez y su contenido lipídico son factores que influyen en el efecto sobre el perfil de ácidos grasos de la leche.

2.4.3. Efectos del cambio de la ración suministrada sobre la composición de la grasa láctea

El efecto del tiempo transcurrido tras el cambio de la ración suministrada a los animales sobre los contenidos de los ácidos grasos de la grasa láctea es interesante por dos aspectos: establecer en qué momento se modifican las cualidades nutritivas de la grasa láctea y conocer el efecto residual de la ración.

Tabla 2.17. Efecto del cambio en la alimentación suministrada a los animales sobre los contenidos (g/1000 g de ácidos grasos) de algunos ácidos grasos y grupos de ácidos grasos en la grasa láctea.

Autor	Días	C18:1 <i>trans</i>	C18:2 <i>cis-9,trans-11</i>	C18:3 n-3	AGS	AGMI	AGPI
Biondi <i>et al.</i> (2008)	0	13 ^b	16 ^c	11 ^{ba}	743 ^a	198 ^c	61 ^c
	3	31 ^a	23 ^{bc}	33 ^a	672 ^b	236 ^a	93 ^a
Ovejas	8	29 ^a	30 ^b	38 ^a	705 ^{ab}	185 ^{ab}	110 ^a
Entrada a pasto cultivado	23	37 ^a	43 ^a	29 ^a	672 ^b	223 ^{ab}	105 ^a
Renna <i>et al.</i> (2012)	0	12 ^d	6 ^c	5 ^c	590 ^a	286 ^b	35 ^c
	3	22 ^c	9 ^b	8 ^b	481 ^c	362 ^a	48 ^b
Cabras	9	39 ^b	18 ^a	8 ^b	519 ^b	283 ^b	51 ^b
Entrada a pasto natural	23	46 ^a	19 ^a	10 ^a	555 ^a	255 ^b	58 ^a
Elgersma <i>et al.</i> (2004)	0	74	24	10	N.R.	370	57
	2	39	10	10	N.R.	300	35
Vacas	6	27	5	10	N.R.	250	27
Salida de pasto	14	27	4	10	N.R.	250	28
natural	<i>P</i> <	0,001	0,001	N.S.	-	0,001	0,01

AGS, AGMI y AGPI: ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, respectivamente. N.S.: no significativo. N.R.: no reportado.

^{a,b,c}Para cada ácido graso o grupos de ácidos grasos, las medias sin un superíndice común son significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Los trabajos realizados con vacas (Elgersma *et al.*, 2004; Khanal *et al.*, 2008; Coppa *et al.*, 2012; Rego *et al.*, 2016), ovejas (Biondi *et al.*, 2008) y cabras (Renna *et al.*, 2012) ofrecen información sobre la evolución temporal de los contenidos de los ácidos grasos en la grasa láctea tras cambiar la ración

ofrecida en establo por alimentación sobre pastos (naturales o cultivados y con mayor contenido de ácido α -linolénico que la ración de establo) o viceversa. En conjunto, estos trabajos indican que el consumo de ácido α -linolénico por pastoreo ocasiona un incremento de los contenidos de los ácidos vaccénico, ruménico y α -linolénico en la grasa láctea, que es generalmente significativo tres días después desde el cambio de la alimentación, aunque hace falta más de una semana para que los valores se estabilicen (**Tabla 2.17**). En sentido contrario, el cese de la alimentación sobre pastos y el suministro de una ración de establo ocasionan un brusco descenso de los ácidos grasos mencionados anteriormente entre tres y cinco días después del cambio.

Tabla 2.18. Cambios en el tiempo de los contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de algunos ácidos grasos y grupos de ácidos grasos en la grasa láctea tras comenzar a consumir una ración con aceite vegetal.

Autor	Tiempo	C18:1 <i>trans</i> -11	C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	C18:3 n-3
Roy <i>et al.</i> (2006)	-2 d	1,21 ^b	0,54 ^c	0,74 ^b
Vacas	6 d	7,34 ^a	2,02 ^b	0,95 ^a
5,2% de aceite de lino	18 d	7,49 ^a	2,89 ^a	0,74 ^b
Martínez Marín <i>et al.</i> (2013b)	1 h	0,78	0,39	0,18*
Cabras	12 h	1,65*	0,60*	0,34*
2,9% de aceite de lino	1 d	3,06*	0,97*	0,50*
	8 d	3,64*	1,21*	0,65*
	21 d	3,49*	1,60*	0,83*

AGS, AGMI y AGPI: ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, respectivamente. N.S.: no significativo. N.R.: no reportado.

^{a,b,c}Para cada ácido graso, las medias sin un superíndice común son significativamente diferentes ($P < 0,05$).

*Valores significativamente diferentes ($P < 0,05$) de los valores de la ración control, sin aceite añadido, en cada uno de los tiempos.

Algunos autores han reportado la respuesta en el tiempo de los contenidos de los ácidos grasos de la leche tras la inclusión de aceites vegetales en la ración de vacas (Dhiman *et al.*, 2000; Roy *et al.*, 2006), ovejas (Gómez-Cortés *et al.*,

2011; Soják *et al.*, 2015) y cabras (Luna *et al.*, 2008; Martínez Marín *et al.* 2013b). En dichos trabajos, los cambios se investigaron a partir de dos días desde el suministro del aceite a los animales. Una excepción fue el trabajo de Martínez Marín *et al.* (2013b) quienes reportaron las respuestas observadas tras una hora desde el consumo de la ración con aceite, pero el número de ácidos grasos estudiados fue limitado. De acuerdo con los resultados de los trabajos mencionados, la composición de la grasa láctea cambia rápidamente tras el consumo de una ración con aceite, con incrementos notables de los contenidos de los C18 mono y diinsaturados (**Tabla 2.18**).

2.4.4. Efectos de la composición de la ración y su interacción con las fuentes de grasa añadidas a la misma en cabras

Trabajos realizados en los últimos años con cabras (**Tabla 2.19**) señalan que el aumento del porcentaje de forraje en la ración incrementa el contenido de grasa láctea y reduce la producción de leche, sin cambios en el contenido proteico (Álvarez *et al.*, 2007; Serment *et al.*, 2011). Sin embargo, la efectividad física de la fibra neutro detergente parece que no afecta a los parámetros productivos (Li *et al.*, 2014a). Por otra parte, la sustitución completa de los cereales de la ración por subproductos fibrosos ricos en fibra neutro detergente digestible reduce la producción de leche y aumenta el contenido graso, sin afectar al contenido proteico (Ibañez *et al.*, 2015b).

El efecto de la composición de la ración basal, sin grasa añadida, sobre los ácidos grasos de la leche no ha sido muy estudiado. Los resultados de algunos trabajos publicados se han recopilado en las **Tablas 2.20 a 2.23**. Los valores reportados son muy contradictorios, lo que sugiere que las respuestas de los animales estuvieron fuertemente influenciadas, no solamente por el valor de la relación forraje/concentrado, sino también por las características de las raciones utilizadas en cada uno de los experimentos. Las respuestas comunes parecen limitarse a un aumento del contenido de los ácidos mirístico, C15:0 iso, C18:1 *trans*-10, vaccénico, linoleico y ruménico al reducirse el valor de la relación forraje/concentrado (Mele *et al.*, 2008; Ollier *et al.*, 2009; Serment *et al.*, 2011).

Tabla 2.19. Efecto de las características de la ración sobre los resultados productivos en cabras.

Autor	Ración	Leche g/d	Grasa g/kg	Proteína g/kg	Lactosa g/kg
Álvarez <i>et al.</i> (2007)	F:C = 65:35	N.R.	43,9	37,1	44,4
	F:C = 35:65	N.R.	39,2	36,8	45,3
	<i>P</i>	-	<0,05	N.S.	<0,05
Serment <i>et al.</i> (2011)	35% concentrado	2950	41,9	32,5	46,0
	75% concentrado	3710	34,9	32,0	46,7
	<i>P</i>	<0,05	<0,05	N.S.	N.S.
Li <i>et al.</i> (2014a)	Alta FNDfe	2032	25,5	27,9	39,4
	Baja FNDfe	2047	27,6	27,8	40,1
	<i>P</i>	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Ibañez <i>et al.</i> (2015)	Cebada	2400	53,4	37,9	45,6
	Cascarilla de soja + Gluten feed de maíz	2200	62,1	37,9	45,6
	<i>P</i>	<0,05	<0,05	N.S.	N.S.

F:C: relación forraje:concentrado. FNDfe: fibra neutro detergente físicamente efectiva.
N.S.: no significativo. N.R.: no reportado.

Tabla 2.20. Efecto de las características de la ración sobre los contenidos de los ácidos grasos saturados y sus productos de Δ -9 desaturación en la grasa láctea de cabras.

Autor	Ración	C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C10:1 <i>cis</i> -9	C14:1 <i>cis</i> -9	C16:1 <i>cis</i> -9
Mele <i>et al.</i> (2008)	F:C = 63:37	3,83	3,71	5,26	8,22	3,75	9,54	28,16	6,71	N.R.	0,13	0,35
	F:C = 35:65	3,80	3,79	5,04	8,69	4,02	10,03	30,02	6,70	N.R.	0,17	0,31
	<i>P</i>	N.S.	N.S.	N.S.	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	N.S.	N.R.	<0,05	N.S.
Ollier <i>et al.</i> (2009)	F:C = 60:40	1,95	2,47	2,87	10,87	5,63	12,59	27,61	7,12	0,25	N.R.	0,60
	F:C = 40:60	1,93	2,49	2,95	11,26	6,01	12,52	26,98	6,69	0,25	N.R.	0,59
	<i>P</i>	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	<0,05	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.R.	N.S.
Serment <i>et al.</i> (2011)	35% concentrado	1,82	2,38	2,88	9,68	3,70	8,97	27,95	9,23	N.R.	0,13	0,48
	75% concentrado	1,74	2,50	3,22	11,3	4,88	10,59	23,79	8,07	N.R.	0,14	0,37
	<i>P</i>	N.S.	N.S.	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	N.R.	N.S.	0,05
Li <i>et al.</i> (2014a)	Alta FNDfe	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	5,05	N.R.	26,78	8,98	N.R.	N.R.	N.R.
	Baja FNDfe	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	4,93	N.R.	28,76	7,45	N.R.	N.R.	N.R.
	<i>P</i>	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.S.	N.R.	N.S.	N.S.	N.R.	N.R.	N.R.

F:C: relación forraje:concentrado. FNDfe: fibra neutro detergente físicamente efectiva. N.S.: no significativo. N.R.: no reportado.

Tabla 2.21. Efecto de las características de la ración sobre los contenidos de los ácidos grasos saturados impares y ramificados en la grasa láctea de cabras.

Autor	Ración	C5:0	C7:0	C9:0	C11:0	C13:0	C15:0	C17:0	C17:1 cís-9	C14:0 iso	C15:0 iso	C15:0 anteiso	C16:0 iso	C17:0 iso	C17:0 anteiso	C18:0 iso
Mele <i>et al.</i> (2008)	F:C = 63:37	N.R.	N.R.	N.R.	0,07	0,07	0,91	0,57	N.R.	N.R.		0,41	0,28	N.R.	0,28	N.R.
	F:C = 35:65	N.R.	N.R.	N.R.	0,08	0,07	1	0,62	N.R.	N.R.		0,51	0,28	N.R.	0,44	N.R.
	<i>P</i>	N.R.	N.R.	N.R.	<0,05	N.S.	N.S.	N.S.	N.R.	N.R.		<0,05	N.S.	N.R.	<0,05	N.R.
Ollier <i>et al.</i> (2009)	F:C = 60:40	0,02	0,04	0,08	0,14	0,25	1,32	0,66	0,27	0,13	0,24	0,46	0,28	0,35	N.R.	0,03
	F:C = 40:60	0,03	0,06	0,12	0,2	0,29	1,26	0,55	0,22	0,12	0,19	0,39	0,25	0,29	N.R.	0,02
	<i>P</i>	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	N.S.	<0,05	<0,05	N.S.	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	N.R.	<0,05
Serment <i>et al.</i> (2011)	35% concentrado	N.R.	N.R.	N.R.	0,29	0,14	1,01	0,70	N.R.	N.R.	0,22	0,33	0,24	0,47	0,33	N.R.
	75% concentrado	N.R.	N.R.	N.R.	0,34	0,19	1,04	0,71	N.R.	N.R.	0,17	0,3	0,29	0,42	0,34	N.R.
	<i>P</i>	N.R.	N.R.	N.R.	N.S.	<0,05	N.S.	N.S.	N.R.	N.R.	<0,05	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.R.
Li <i>et al.</i> (2014a)	Alta FNDfe	N.R.	N.R.	N.R.	0,20	0,09	1,00	0,73	0,33	N.R.	0,32	0,49	N.R.	0,38	N.R.	N.R.
	Baja FNDfe	N.R.	N.R.	N.R.	0,22	0,09	0,98	0,68	0,30	N.R.	0,23	0,45	N.R.	0,49	N.R.	N.R.
	<i>P</i>	N.R.	N.R.	N.R.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.R.	<0,05	N.S.	N.R.	<0,05	N.R.	N.R.

F:C: relación forraje:concentrado. FNDfe: fibra neutro detergente físicamente efectiva. N.S.: no significativo. N.R.: no reportado.

Tabla 2.22. Efecto de las características de la ración sobre los contenidos de los ácidos grasos monoinsaturados de 18 átomos de carbono en la grasa láctea de cabras.

Autor	Ración	C18:1 <i>cis</i> -11	C18:1 <i>cis</i> -12	C18:1 <i>cis</i> -13	C18:1 <i>cis</i> -14	C18:1 <i>cis</i> -15	C18:1 <i>cis</i> -16	C18:1 <i>trans</i> -9	C18:1 <i>trans</i> -10	C18:1 <i>trans</i> -11	C18:1 <i>trans</i> -12	C18:1 <i>trans</i> -13/14	C18:1 <i>trans</i> -16
Mele <i>et al.</i> (2008)	F:C = 63:37	0,36	0,25	0,07	0,14	N.R.	N.R.	0,23	0,34	1,01	0,20	N.R.	N.R.
	F:C = 35:65	0,31	0,19	0,06	0,11	N.R.	N.R.	0,21	0,50	1,09	0,16	N.R.	N.R.
	<i>P</i>	<0,05	N.S.	N.S.	N.S.	N.R.	N.R.	N.S.	<0,05	<0,05	N.S.	N.R.	N.R.
Ollier <i>et al.</i> (2009)	F:C = 60:40	0,38	0,14	0,03	N.R.	0,05	N.R.	0,18	0,19	0,86	0,16	0,31	0,19
	F:C = 40:60	0,45	0,16	0,04	N.R.	0,05	N.R.	0,22	0,26	1,34	0,21	0,36	0,21
	<i>P</i>	<0,05	<0,05	N.S.	N.R.	N.S.	N.R.	<0,05	<0,05	N.S.	<0,05	N.S.	N.S.
Serment <i>et al.</i> (2011)	35% concentrado	0,41	0,26	0,08	N.R.	N.R.	N.R.	0,29	0,38	1,38	0,34	N.R.	0,25
	75% concentrado	0,46	0,47	0,09	N.R.	N.R.	N.R.	0,42	0,67	2,78	0,51	N.R.	0,32
	<i>P</i>	N.S.	<0,05	<0,05	N.R.	N.R.	N.R.	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	N.R.	<0,05
Li <i>et al.</i> (2014a)	Alta FNDfe	0,52	0,25	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	0,42	0,94	4,15	0,27	N.R.	N.R.
	Baja FNDfe	0,55	0,22	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	0,53	1,57	2,66	0,26	N.R.	N.R.
	<i>P</i>	N.S.	N.S.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.S.	<0,05	<0,05	N.S.	N.R.	N.R.

F:C: relación forraje:concentrado. FNDfe: fibra neutro detergente físicamente efectiva. N.S.: no significativo. N.R.: no reportado.

Tabla 2.23. Efecto de las características de la ración sobre los contenidos de los ácidos grasos diinsaturados de 18 átomos de carbono en la grasa láctea de cabras.

Autor	Ración	C18:2 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12	C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -12	C18:2 <i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15	C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	C18:2 <i>trans</i> -7, <i>cis</i> -9	C18:2 <i>trans</i> -9, <i>cis</i> -11	C18:2 <i>trans</i> -11, <i>cis</i> -13	C18:2 <i>trans</i> -11, <i>trans</i> -13
Mele <i>et al.</i> (2008)	F:C = 63:37	2,77	N.R.	N.R.	0,61	0,48	0,38	0,05	0,05
	F:C = 35:65	2,97	N.R.	N.R.	0,80	0,60	0,32	0,07	0,06
	<i>P</i>	<0,05	N.R.	N.R.	<0,05	N.S.	N.S.	<0,05	N.S.
Ollier <i>et al.</i> (2009)	F:C = 60:40	2,14	0,06	0,04	0,51	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
	F:C = 40:60	2,28	0,07	0,02	0,78	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
	<i>P</i>	N.S.	N.S.	<0,05	N.S.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
Serment <i>et al.</i> (2011)	35% concentrado	2,81	0,05	0,06	0,65	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
	75% concentrado	3,35	0,06	0,09	1,28	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
	<i>P</i>	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.

F:C: relación forraje:concentrado. FNDfe: fibra neutro detergente físicamente efectiva. N.S.: no significativo. N.R.: no reportado.

Respecto al efecto de la interacción entre el porcentaje de forraje y la adición de fuentes de grasa a la ración sobre los resultados productivos, Mele *et al.* (2008) y Ollier *et al.* (2009) reportaron resultados contradictorios en la producción de leche y ausencia de cambios en el contenido proteico, con independencia de la relación forraje/concentrado (**Tabla 2.24**). La interacción del nivel de forraje y la degradabilidad ruminal del almidón con la presencia de aceite de girasol en la ración fue investigada por Bernard *et al.* (2012), quienes observaron un aumento de la producción de leche y una reducción del contenido graso, sin cambios en el contenido proteico, al reducir el nivel de forraje y con independencia de la degradabilidad del almidón (**Tabla 2.24**).

Tabla 2.24. Efecto de la interacción entre las características de la ración basal y la adición de semillas y aceites vegetales a la misma sobre los resultados productivos en cabras.

Autor	Ración	Leche g/d	Grasa g/kg	Proteína g/kg	Lactosa g/kg
Mele <i>et al.</i> (2008)	F:C = 63:37 ¹	2390	33,1	32,0	43,2
	F:C = 35:65 ¹	2260	31,4	31,3	43,5
	<i>P</i>	<0,05	<0,05	N.S.	N.S.
Ollier <i>et al.</i> (2009)	F:C = 60:40 ²	3850	38,7	32,3	46,4
	F:C = 40:60 ³	4260	38,2	32,5	47,8
	<i>P</i>	<0,05	N.S.	N.S.	<0,05
Bernard <i>et al.</i> (2012)	F:C = 58:42 ⁴	2660	36,8	33,8	46,9
	F:C = 37:63 ⁵	3160	32,7	34,3	47,0
	F:C = 31:69 ⁵	3280	32,4	34,2	47,5
	<i>P</i>	<0,05	<0,05	N.S.	N.S.

F:C: relación forraje:concentrado. N.S.: no significativo.

¹4,0% de aceite de soja. ²14,6% de semilla de colza. ³4,4% de aceite de girasol. ⁴6,9% de aceite de girasol. ⁵5,5% de aceite de girasol.

Por otro lado, las respuestas de los contenidos de los ácidos grasos de la leche, en particular los C18:1 *trans* y los C18:2 conjugados, a la inclusión de fuentes de grasa en la ración parecen depender del valor de la relación

forraje/concentrado, el tipo de forraje y el tipo de fuente de grasa (**Tabla 2.25**). Adicionalmente, el trabajo de Bernard *et al.* (2012) mostró que, en presencia de aceite de girasol, el aumento de la degradabilidad del almidón de la ración afectó negativamente al contenido total de ácidos grasos de 18 átomos de carbono, destacando la reducción de los contenidos a los ácidos vaccénico y ruménico y el aumento notable del contenido de C18:1 *trans*-10. No hemos encontrado trabajos realizados con cabras en los que se haya investigado la interacción entre las características de los carbohidratos aportados por el concentrado de la ración y la adición de semillas o aceites vegetales a la misma.

Tabla 2.25. Efecto de la interacción entre las características de la ración basal y la adición de semillas y aceites vegetales a la misma sobre los contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de algunos ácidos grasos y grupos de ácidos grasos en la grasa láctea de cabras.

Autor	Ración	C18:1 <i>trans</i> -10	C18:1 <i>trans</i> -11	C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	C18:1 <i>trans</i>	C18:2 conjugados
Mele <i>et al.</i> (2008)	F:C = 63:37 ¹	0,65 ^b	7,54 ^a	3,79 ^a	9,98	4,27 ^a
	F:C = 35:65 ¹	1,06 ^a	4,87 ^b	2,67 ^b	7,15	3,10 ^b
Ollier <i>et al.</i> (2009)	F:C = 60:40 ²	0,40 ^b	0,94 ^b	0,47 ^b	3,39 ^b	0,47 ^b
	F:C = 40:60 ³	0,68 ^a	7,67 ^a	3,52 ^a	10,52 ^a	3,54 ^a
Bernard <i>et al.</i> (2009c) Experimento 1	Control heno	0,15	1,51 ^b	0,83 ^b	2,25 ^b	0,97 ^b
	Aceite de girasol ⁴	0,08	9,02 ^a	3,69 ^a	11,03 ^a	4,06 ^a
	Aceite de lino ⁴	0,05	8,14 ^a	3,31 ^a	10,40 ^a	4,18 ^a
Bernard <i>et al.</i> (2009c) Experimento 2	Control ensilado	0,44 ^b	1,17 ^c	0,82 ^c	2,41 ^c	0,93 ^c
	Aceite de girasol ⁵	3,23 ^a	8,50 ^a	4,27 ^a	14,46 ^a	4,70 ^a
	Aceite de lino ⁵	1,56 ^b	5,36 ^b	2,56 ^b	10,24 ^b	3,00 ^b

F:C: relación forraje:concentrado. FNDfe: fibra neutro detergente físicamente efectiva. N.S.: no significativo.

¹4,0% de aceite de soja. ²14,6% de semilla de colza. ³4,4% de aceite de girasol. ⁴5,5% de aceite. ⁵6,2% de aceite.

^{a,b,c}Para cada ácido graso, las medias sin un superíndice común son significativamente diferentes ($P < 0,05$).

2.5. LOS ÁCIDOS GRASOS DE LA LECHE COMO INDICADORES DE LA FUNCIÓN RUMINAL

La fermentación de los componentes de la ración por las bacterias ruminales resulta en la producción de ácidos grasos volátiles, principalmente acético, propiónico y butírico, que sirven al animal como fuente de energía (pudiendo cubrir hasta un 70% de las necesidades totales diarias) y como sustratos para la síntesis de los componentes de la leche, como la grasa (Baldwin y Allison, 1983; Bergman, 1990). La fermentación ruminal también resulta en la producción de gases, mayoritariamente metano y dióxido de carbono, que se eliminan por eructación y suponen una pérdida de energía. A nivel de alimentación de mantenimiento, el metano representa una pérdida de la energía bruta del alimento comprendida entre un 6-11%, en función de la digestibilidad y la composición de la ración (Blaxter y Clapperton, 1965). La producción de metano se relaciona positivamente con la de acetato y butirato y negativamente con la de propionato (McAllister *et al.*, 1996; Moss *et al.*, 2000). A partir de 102 ensayos de balance de energía realizados con cabras, Aguilera y Prieto (1991) encontraron relaciones lineales positivas entre la cantidad de carbohidratos consumidos y la producción diaria de metano. Recientemente, Ramin y Huhtanen (2013) utilizaron las medias de 298 tratamientos (207 en vacunos y 91 en ovinos) de 52 trabajos publicados para investigar la relación entre las características de la ración y la producción de metano. Estos autores hallaron que el consumo diario de materia seca es el principal determinante de la producción de metano, y que esta se relaciona negativamente con el nivel de alimentación y el contenido graso de la ración y positivamente con su digestibilidad, en tanto que los carbohidratos tienen un efecto positivo menor. Patra y Lalhriatpuii (2016) investigaron en cabras la relación de la producción de metano con las características de la ración, utilizando las medias de 211 tratamientos de 42 trabajos publicados (incluyendo el de Aguilera y Prieto, 1991), y obtuvieron resultados similares a los de Ramin y Huhtanen (2013), esto es, un efecto negativo del nivel de alimentación y el consumo de grasa y un efecto positivo del consumo de carbohidratos y la digestibilidad de la ración. El

efecto depresor de la grasa añadida a la ración de vacunos y ovinos sobre la producción de metano es bien conocido (Grainger y Beauchemin, 2011; Patra, 2013; Ramin y Huhtanen, 2013) y los trabajos de Li *et al.* (2009), Jeong *et al.* (2012) y Patra y Lalhriatpuii (2016) sugieren que la respuesta es similar en cabras (**Tabla 2.26**).

Tabla 2.26. Efecto de la adición de semillas y aceites vegetales a la ración sobre la producción (l/d) de metano.

Autor	Ración	Metano
Machmüller y Kreutzer (1999) Ovejas	Control	41,2 ^a
	3,5 % de aceite de coco	29,6 ^b
	7,0% de aceite de coco	11,1 ^c
Martin <i>et al.</i> (2008) Vacas	Control	583 ^a
	12,4% de semilla de lino cruda	515 ^b
	15,0% de semilla de lino extrusionada	360 ^c
	5,8% de aceite de lino	208 ^d
Jeong <i>et al.</i> (2012) Cabras	Control	26,8 ^a
	3,0% de aceite de soja	20,7 ^b
	3,0% de aceite de coco	18,0 ^b
	3,0% de aceite de palma	19,1 ^b

^{a,b,c,d} Las medias sin un superíndice común son significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Los ácidos grasos impares y ramificados son componentes distintivos de la leche y el tejido adiposo de los rumiantes, que proceden casi en su totalidad de los microorganismos ruminales (Dewhurst *et al.*, 2007). Las bacterias y protozoos del rumen tienen un perfil característico de ácidos grasos impares y ramificados en sus membranas (Or-Rashid *et al.*, 2007). Las bacterias amilolíticas, que producen relativamente más propionato, se caracterizan por una mayor proporción de ácidos grasos impares de cadena lineal, mientras que las bacterias celulolíticas, que son las principales productoras de acetato, tienen una proporción mayor de ácidos grasos iso (Vlaeminck *et al.*, 2006a). A partir de estudios realizados con vacas, Vlaeminck *et al.* (2006a) encontraron que los

contenidos de los ácidos grasos impares y ramificados en la grasa láctea se relacionan linealmente, en sentido positivo o negativo, con algunas características de la ración suministrada a los animales y con los contenidos de ácidos grasos intermediarios de la biohidrogenación ruminal en la grasa láctea. Estos autores observaron una correlación positiva de la relación $(C15:0 \text{ iso} + C17:0 \text{ iso}) / (C15:0 \text{ anteiso} + C17:0 \text{ anteiso})$ con las proporciones forraje/concentrado y fibra neutro detergente/almidón, mientras que la inclusión de fuentes vegetales de grasa ricas en ácidos grasos insaturados mostró un efecto negativo sobre el contenido total de ácidos grasos impares y ramificados. Estas y otras relaciones indican que los contenidos de los ácidos grasos impares y ramificados en la grasa láctea podrían servir como biomarcadores de los efectos de la composición de la ración sobre el medio ambiente y las poblaciones microbianas del rumen (Fievez *et al.*, 2012).

En la última década, se han propuesto numerosas ecuaciones de regresión para predecir las proporciones molares de ácidos grasos volátiles y la producción de metano a partir de la composición de la grasa láctea en vacas (Vlaeminck y Fievez, 2004; Chilliard *et al.*, 2009; Craninx *et al.*, 2008a; Dijkstra *et al.*, 2011; Mohammed *et al.*, 2011b; Montoya *et al.*, 2011; Bhagwat *et al.*, 2012; Van Lingen *et al.*, 2014). Debido al aumento de los resultados disponibles, la capacidad predictiva y la aplicabilidad de las ecuaciones a una variedad de raciones ha mejorado con el tiempo. En la mayoría de las ecuaciones, los contenidos de diversos ácidos grasos impares y ramificados y ácidos grasos intermediarios de la biohidrogenación ruminal en la grasa láctea han mostrado ser predictores válidos. Por otra parte, los trabajos de Van Nespen *et al.* (2005), Craninx *et al.* (2007) y Colman *et al.* (2010) muestran que dichos ácidos grasos también son buenos predictores del riesgo y la instauración de acidosis ruminal. Estudios similares a los descritos anteriormente no se han llevado a cabo con datos obtenidos en cabras, pero los resultados de los trabajos de Serment *et al.* (2011), Romero-Huelva *et al.* (2012), Li *et al.* (2014a) y Criscioni y Fernández (2016) sugieren que los mismos ácidos grasos identificados como predictores en vacas podrían utilizarse en

cabras. No obstante, habría que realizar más trabajos de investigación específicamente dirigidos al fin de desarrollar ecuaciones de regresión como las obtenidas en vacas.

2.6. SEMILLA Y ACEITE DE LINO EN LA ALIMENTACIÓN DE LOS RUMIANTES LECHEROS

La semilla de lino ha sido usada desde el siglo XIX en la alimentación de los animales de granja. Su composición química fue recogida en los manuales de alimentación por primera vez por Grandeu (1876). Posteriormente, Kellner (1910) ofreció una estimación de su digestibilidad y valor energético. En los últimos años, la inclusión de grasa de lino en la ración de los rumiantes, ya sea como semilla o aceite, ha despertado gran interés porque es la única grasa vegetal comúnmente disponible que aporta cantidades relevantes de ácido α -linolénico (**Tabla 2.13**), permitiendo potencialmente el enriquecimiento de la leche y la carne en dicho ácido graso (Shingfield *et al.*, 2013), y tiene un efecto depresor de la producción de metano que puede ser igual o mayor que el de otras fuentes de grasa (Martin *et al.*, 2010; Vargas *et al.*, 2011).

En comparación con raciones sin grasa suplementaria o adicionadas con fuentes de grasa ricas en los ácidos oleico o linoleico, la semilla y el aceite de lino tienen como principal efecto el aumento del contenido de ácido α -linolénico en la grasa láctea (**Tabla 2.27**), aunque la transferencia aparente de la ración a la leche es muy baja, con valores generalmente inferiores a un 4% (Zhang *et al.*, 2006; Benchaar *et al.*, 2012; Martínez Marín *et al.*, 2012). Otro efecto característico es la ausencia de efectos sobre el contenido de C18:1 *trans*-10, a diferencia de lo observado en otras fuentes de grasa. Este efecto no se apreció en el metaanálisis de Glasser *et al.* (2008a), probablemente debido al bajo número de tratamientos (solamente cuatro) que pudieron utilizar para investigar este parámetro, pero fue muy claro en los metaanálisis de Pavón (2012, 2013), que incluyeron mayor número de tratamientos (45 y 27, respectivamente). La magnitud del aumento de los contenidos de los ácidos vaccénico y ruménico es

ligeramente inferior a la observada cuando se utilizan fuentes de grasa ricas en ácido linoleico.

Tabla 2.27. Resultados del metaanálisis de los efectos de la inclusión de fuentes de grasa con diferente grado de insaturación en la ración sobre los contenidos (g/100 g de ácidos grasos) de algunos ácidos grasos de la leche.

	C16:0	C18:1 <i>trans</i> -10	C18:1 <i>trans</i> -11	C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	C18:2 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12	C18:3 n-3
Vacas						
Glasser <i>et al.</i> (2008a)						
Control	31,3	0,6	1,7	0,6	2,4	0,6
Semilla de colza	25,0*	N.R.	N.R.	0,7	2,0	1,1*
Semilla de soja	23,7*	0,6	3,1	0,9*	4,0*	0,7*
Semilla de lino	24,1*	1,4	1,4	0,8*	2,2	0,6
Ovejas						
Pavón (2013)						
Control	26,1	0,8	1,6	0,7	2,9	0,6
GO	22,1*	3,9*	3,0	1,0	2,9	0,6
GL	22,2*	2,5*	4,8*	1,9*	3,3*	0,6
GAL	22,1*	0,6	3,8*	1,5*	2,9	1,4*
Cabras						
Pavón (2012)						
Control	30,9	0,3	0,9	0,6	2,4	0,5
GO	23,1*	0,6	1,7	0,8	2,1*	0,5
GL	23,4*	1,1*	6,1*	2,7*	3,0*	0,4
GAL	22,9*	0,5	4,1*	1,7*	2,2	1,0*

GO, GL y GAL: dietas sin grasa añadida o enriquecidas con ácido oleico, ácido linoleico y ácido α -linolénico, respectivamente.

*Valor significativamente diferente ($P < 0,05$) al valor del control.

Bernard *et al.* (2009c) observaron que el suministro de 130 g/d de aceite de lino a cabras mejoró el perfil de ácidos grasos de la leche en comparación con el aceite de girasol normal desde el punto de vista de la salud humana, si bien la respuesta estuvo modulada por el tipo de forraje de la ración basal (heno de

hierba vs ensilado de maíz). No hemos encontrado otros trabajos realizados con cabras en los que el factor de interferencia de la respuesta al aceite de lino haya sido el tipo de carbohidratos mayoritarios en el concentrado de la ración.

2.7. RESUMEN

La grasa láctea tiene una compleja composición que presenta diferencias interespecíficas y está fuertemente influenciada por las características de la ración suministrada a los animales, especialmente el aporte de fuentes de grasa ricas en ácidos grasos insaturados, y su interacción con la actividad microbiana ruminal. La composición de la grasa láctea varía en función de las proporciones de ácidos grasos de diferentes orígenes utilizados por la glándula mamaria para la síntesis de triacilgliceroles: ácidos grasos de cadena larga de origen alimentario o movilizados desde el tejido adiposo en situaciones de balance energético negativo, ácidos grasos de cadena corta y media sintetizados *de novo* en la glándula mamaria a partir de acetato y β -hidroxibutirato, y ácidos grasos procedentes del rumen y derivados del metabolismo lipídico microbiano. Los ácidos grasos de este último grupo son potenciales indicadores de los efectos de la ración suministrada sobre el medio ambiente ruminal y las proporciones relativas de las poblaciones microbianas.

Actualmente existe abundante información obtenida en cabras sobre las respuestas de los contenidos de los ácidos grasos de la leche a la manipulación de la composición de la ración. Sin embargo, hay dos aspectos que aún están poco estudiados: i) la interacción entre las fuentes de grasa y los carbohidratos mayoritarios en el concentrado de la ración; y ii) las variaciones a corto plazo tras el cambio de la ración suministrada. Entre las fuentes vegetales de grasa disponibles en alimentación animal, la semilla y el aceite de lino ofrecen numerosas ventajas por su efecto positivo sobre las cualidades saludables de la grasa láctea para el ser humano, así como por su contribución a mitigar el efecto de la producción animal de gases de efecto invernadero sobre el medio ambiente.

3. OBJETIVOS

El aporte de ácidos grasos insaturados a las cabras mediante la inclusión de semillas y aceites en su ración afecta a la composición de la grasa de la leche. La semilla de lino y, especialmente, el aceite de lino destacan sobre otras fuentes de grasa insaturada por sus marcados efectos sobre los contenidos de ácidos grasos de la grasa láctea, particularmente aquellos que son relevantes en nutrición humana como los saturados de cadena media, algunos intermediarios de la biohidrogenación ruminal y los poliinsaturados n-3.

Dada la relevancia del sector caprino en España y la necesidad de promover cambios en los sistemas de alimentación en pro de la sustentabilidad, sería importante conocer si la clase de carbohidratos mayoritarios en el concentrado de la ración afecta a los contenidos de los ácidos grasos de la leche que son relevantes desde el punto de vista de la salud humana, y si la respuesta de los ácidos grasos de la leche a la inclusión de aceite de lino en la dieta se ve modificada por el tipo de concentrado. Adicionalmente, debido a la escasez de datos existente en la actualidad, convendría obtener información sobre las variaciones a muy corto plazo del perfil de ácidos grasos de la leche tras el cambio de la ración suministrada, para establecer en que condiciones ocurre la respuesta más rápida. Finalmente, el estudio simultáneo de las características de la ración y los cambios de los contenidos de algunos ácidos grasos derivados del metabolismo microbiano ruminal en la grasa láctea podría contribuir al conocimiento del impacto de la ración sobre el ambiente ruminal.

El objetivo general de la presente Tesis fue determinar el efecto de la adición de lípidos ricos en ácidos grasos omega-3 a la ración de cabras lecheras sobre la producción y la composición de la leche y la composición de la grasa láctea. Los objetivos concretos fueron:

- 1) Determinar cuál es el efecto de la interacción entre la inclusión de aceite de lino en la ración y el tipo de carbohidratos mayoritarios en el concentrado de la misma sobre la producción y composición de la leche, y los contenidos de ácidos grasos de la grasa láctea.

- 2) Investigar cuáles son los cambios a muy corto plazo de los contenidos de ácidos grasos de la leche tras la inclusión o la retirada de aceite de lino de la ración, en función de la clase de carbohidratos mayoritarios en el concentrado.
- 3) Establecer qué ácidos grasos derivados del metabolismo microbiano ruminal que se encuentran presentes en la grasa láctea pueden ayudar a caracterizar el impacto de la ración consumida por los animales sobre el ambiente ruminal.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. PLAN EXPERIMENTAL

Se realizaron cuatro experimentos en los que se utilizaron dos raciones basales adicionadas o no con aceite de lino.

- **Experimento 1:** determinación del efecto de la adición de aceite de lino a una ración basal que incluyó un concentrado rico en almidón sobre la producción y la composición de la leche y los contenidos de ácidos grasos de la grasa láctea.
- **Experimento 2:** determinación del efecto de la adición de aceite de lino a una ración basal que incluyó un concentrado rico en fibra neutro detergente sobre la producción y la composición de la leche y los contenidos de ácidos grasos de la grasa láctea.
- **Experimento 3:** determinación de las variaciones de los contenidos de ácidos grasos en la grasa láctea tras cambiar una ración con aceite de lino por la misma ración sin aceite añadido o viceversa, cuando el concentrado fue rico en almidón.
- **Experimento 4:** determinación de las variaciones de los contenidos de ácidos grasos en la grasa láctea tras cambiar una ración con aceite de lino por la misma ración sin aceite añadido o viceversa, cuando el concentrado fue rico en fibra neutro detergente.

4.2. ANIMALES, ALOJAMIENTO, Y MANEJO GENERAL

Todas las experiencias se llevaron a cabo en las instalaciones de la Universidad de Córdoba. Los animales fueron mantenidos de acuerdo con la normativa española de protección de animales de experimentación (*Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia*).

Se utilizaron cabras de raza Malagueña en segunda y tercera lactación (118 ± 16 días de lactación y $52,9 \pm 3,71$ kg de peso vivo inicial). Los animales se alojaron individualmente en jaulas de 1,0 x 1,4 m con suelo permeable a los excrementos y dotadas de comederos y bebederos independientes. Tres semanas antes del comienzo de las experiencias, los animales fueron revacunados frente a agalaxia contagiosa, mamitis gangrenosa, enterotoxemia y septicemia hemorrágica (Laboratorios Ovejero, León, España).

El ordeño se realizó individualmente, una vez al día, a las 8:30 h, con un sistema de ordeño mecánico portátil (DeLaval, Madrid) y posterior apurado manual. La ración se preparó diariamente para cada una de las cabras y se repartió en dos comidas iguales a las 9:30 y 17:30 h.

4.3. TRATAMIENTOS Y RACIONES

En todos los experimentos se utilizó la misma ración basal, compuesta por heno de alfalfa y concentrado granulado en proporción 33/67. El heno de alfalfa (**Tabla 4.1**) se adquirió en la Agropecuaria San Francisco de Borja S.A.C. (Fuente Palmera, Córdoba). El aceite de lino (**Tabla 4.2**) fue adquirido a Gustav Heess S.L. (Barcelona).

Tabla 4.1. Composición del heno de alfalfa incluido en las raciones.

Componente	Valor
Materia seca (MS), %	88,2
Cenizas, % MS	8,1
Proteína bruta, % MS	17,1
Fibra neutro detergente, % MS	52,2
Carbohidratos no fibrosos, %MS	21,0
Almidón, % MS	2,3
Grasa hidrólisis ácida, % MS	1,6

Tabla 4.2. Composición del aceite de lino utilizado (g/100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos).

Ácido graso	Valor
C14:0	0,05
C15:0	0,03
C16:0	5,49
C17:0	0,07
C16:1 <i>cis</i> -9	0,08
C18:0	4,10
C18:1 <i>cis</i> -9	17,49
C18:1 <i>cis</i> -11	0,71
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12	15,62
C18:3 <i>trans</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>trans</i> -15	0,42
C18:3 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>trans</i> -15	3,66
C18:3 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -12, <i>cis</i> -15	0,59
C18:3 <i>trans</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15	3,08
C18:3 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15	46,59
Otros	2,02
Saturados	9,74
Insaturados	88,24
Monoinsaturados	18,28
Poliinsaturados	69,96
Total n-3	54,34
Total n-6	15,62

Los concentrados (**Tabla 4.3**) se elaboraron en los días previos al comienzo de los experimentos en las instalaciones de la empresa Iniciativas Alimentarias S.A. (Torralba de Calatrava, Ciudad Real). Los ingredientes fueron molidos en un molino de martillos con criba de 3 mm de diámetro, mezclados en mezcladora horizontal y granulados al vapor en una granuladora vertical con una matriz de 4 mm de diámetro.

Tabla 4.3. Ingredientes y composición química de los concentrados experimentales.

	Tratamientos			
	Almidón Control	Almidón Aceite	Fibra Control	Fibra Aceite
Ingredientes, g/kg peso seco al aire				
Maíz molido	356,0	347,5	178,0	173,7
Cebada molida	356,0	347,5	178,0	173,7
Cascarilla de soja	0,0	0,0	356,0	347,6
Harina de soja molida	250,0	244,0	250,0	244,0
Aceite de lino	0,0	24,4	0,0	24,4
Corrector vitamínico-mineral	30,0	29,3	30	29,3
Aglomerante	7,0	6,8	7,0	6,8
Antioxidante	1,0	1,0	1,0	1,0
Composición química				
Materia seca (MS), %	89,7	90,5	90,1	90,9
Cenizas, % MS	6,4	6,2	6,9	6,7
Proteína bruta, % MS	18,8	18,2	18,6	18,4
Fibra neutro detergente, % MS	15,4	15,7	35,0	34,7
Carbohidratos no fibrosos, % MS	55,9	54,2	37,1	35,2
Almidón, % MS	49,0	46,7	28,3	26,0
Grasa hidrólisis ácida, % MS	3,5	5,8	2,4	5,0

El aceite de lino fue añadido manualmente a los restantes ingredientes durante el mezclado, en la cantidad conveniente de acuerdo con el diseño experimental. La cantidad necesaria de aceite se mezcló en una proporción 1/10 con una parte de la harina de soja de la fórmula, para facilitar una distribución homogénea en la mezcladora. El concentrado incluyó además un antioxidante (Luctanox; Lucta, Barcelona), un aglomerante mineral (Exal; Tolsa, Madrid) y una premezcla de vitaminas y minerales (Trouwmix M-3020, Trouw Nutrition, Tres Cantos, Madrid). La composición por kg de premezcla fue: vitamina A, 200000 UI; vitamina D3, 40000 UI; vitamina E (acetato de toco-rac-alfa-tocoferilo), 250 mg; manganeso (óxido manganeso), 2 g; zinc (óxido de zinc), 3,66 g; yodo (yoduro de potasio), 25 mg; cobalto (carbonato de cobalto II), 33

mg; selenio (selenito de sodio), 5 mg; hierro (carbonato ferroso), 666,7 mg; molibdeno (molibdato de sodio), 0,8 mg; calcio (carbonato de calcio), 25,2 %; fósforo (fosfato dicálcico), 3 %; sodio (sal común), 8,5%; magnesio (óxido de magnesio), 1,0%. La composición de la ración se muestra en la **Tabla 4.4**.

Tabla 4.4. Ingredientes, composición química, valor nutritivo y aporte de ácidos grasos de las raciones empleadas en los experimentos.

Item	Tratamientos ¹			
	Almidón Control	Almidón Aceite	Fibra Control	Fibra Aceite
Ración, g/d				
Heno de alfalfa	600	600	600	600
Concentrado	1200	1200	1200	1200
Aceite de lino ²	-	30	-	30
Composición química				
Materia seca (MS), %	89,2	89,7	89,5	90,0
Cenizas, % MS	7,0	6,8	7,3	7,2
Proteína bruta, % MS	18,2	17,8	18,1	18,0
Fibra neutro detergente, % MS	27,5	27,7	40,7	40,4
Carbohidratos no fibrosos, %MS	44,4	43,3	31,8	30,6
Almidón, % MS	33,6	32,1	19,7	18,3
Grasa hidrólisis ácida, % MS	2,9	4,4	2,1	3,9
Valor nutritivo ³				
ENI, MJ/kg	5,97	6,19	5,83	6,05
PDIA, g/kg	59	58	60	59
PDIE, g/kg	114	112	117	115
PDIN, g/kg	103	102	106	104
Ácidos grasos aportados por el aceite, g/d				
C16:0	-	1,7	-	1,7
C18:0	-	1,2	-	1,2
C18:1 <i>cis</i> -9	-	5,3	-	5,3
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12	-	4,7	-	4,7
C18:3 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15	-	14,0	-	14,0

¹Las raciones Almidón Control y Fibra Control aportaron 5,0, 0,8, 5,5, 14,3 y 3,4 g/d y 4,6, 1,0, 5,3, 13,7 y 3,8 g/d de C16:0, C18:0, C18:1 *cis*-9, C18:2 *cis*-9,*cis*-12 y C18:3 *cis*-9,*cis*-12,*cis*-15, respectivamente, de acuerdo con INRA (2002).

²Incluido en el concentrado respectivo.

³Calculado de acuerdo con INRA (2007).

4.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

Experimentos 1 y 2

Estos experimentos se realizaron simultáneamente. Se utilizaron un total de 16 animales, ocho en cada experimento. Los animales se asignaron a los grupos experimentales mediante el procedimiento de bloques al azar, utilizando como criterio el peso vivo y la producción individual de leche medida durante los días previos al comienzo de las experiencias. El efecto de la adición de aceite de lino a la ración basal con el concentrado rico en almidón se estudió en el experimento 1. El efecto de la adición de aceite de lino a la ración basal con el concentrado rico en fibra neutro detergente se estudió en el experimento 2. En ambos experimentos se utilizó un diseño cruzado (“cross-over”) con cuatro animales por tratamiento y dos períodos experimentales de 25 días de duración (**Figura 4.1**). En estos experimentos se investigaron los efectos de los tratamientos experimentales sobre la producción y la composición de la leche y la composición de la grasa láctea.

Experimentos 3 y 4

Se utilizaron 16 animales, ocho en cada experimento. Cada experimento tuvo dos tratamientos. Los tratamientos se llevaron a cabo en dos períodos, con cuatro animales por tratamiento y período. Los animales se asignaron a los grupos experimentales como en los experimentos 1 y 2. En el experimento 3, los animales recibieron una ración basal con concentrado rico en almidón sin o con aceite de lino durante 25 días y, a continuación, se les cambió bruscamente a la misma ración basal con o sin aceite de lino, respectivamente. En el experimento 4, el procedimiento fue igual pero el concentrado de la ración fue rico en fibra neutro detergente (**Figura 4.2**). En estos experimentos se investigaron los cambios en los contenidos de ácidos grasos de la grasa láctea en las 24 h siguientes al cambio de la ración suministrada.

Experimento 1

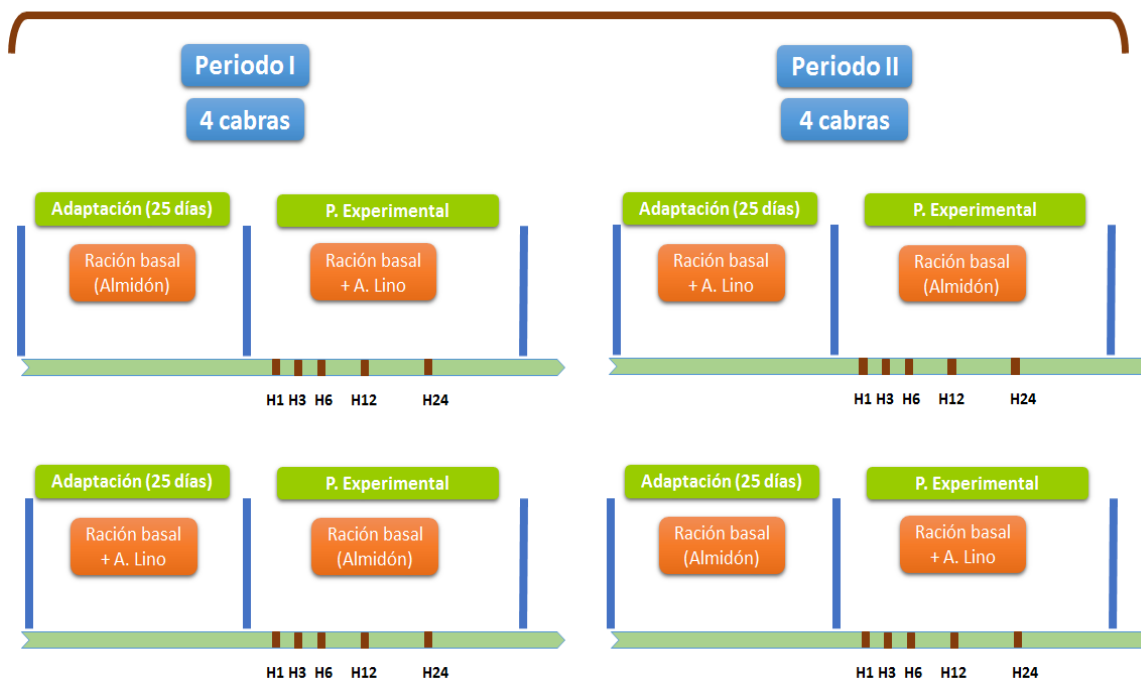


Experimento 2



Figura 4.1. Diseño de los experimentos 1 y 2.

Experimento 3



Experimento 4

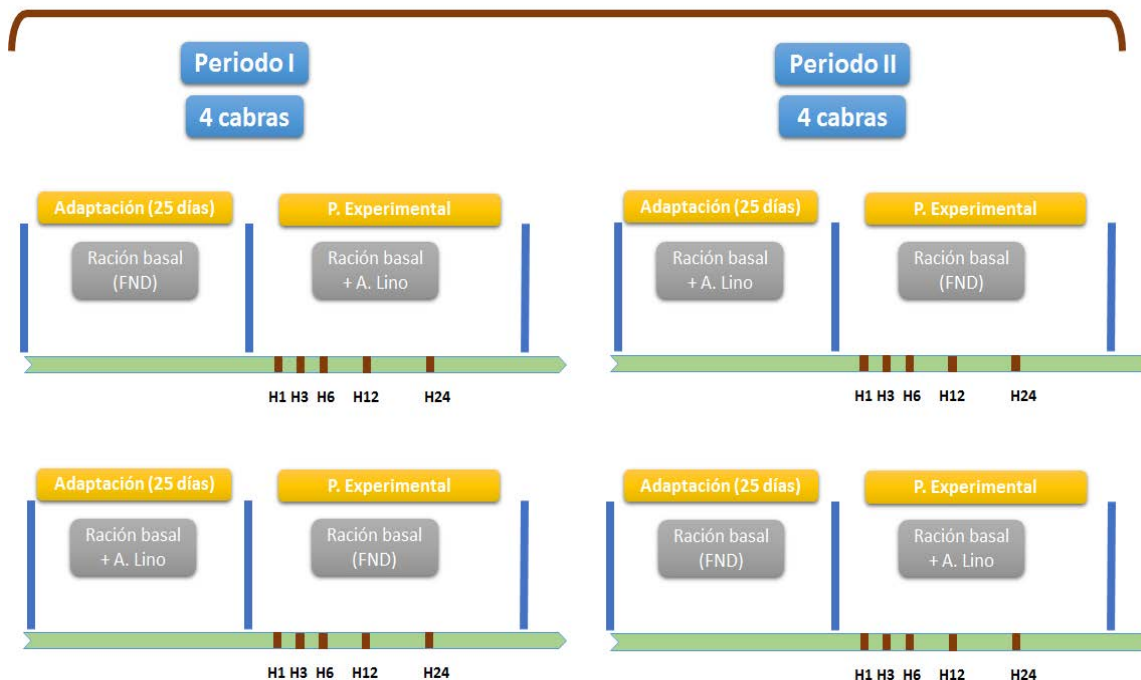


Figura 4.2. Diseño de los experimentos 3 y 4.

4.5. RECOGIDA DE MUESTRAS, MEDIDAS Y ANÁLISIS

4.5.1. Composición de los alimentos suministrados

Se utilizaron muestras representativas del heno de alfalfa y de las cuatro fabricaciones de concentrado para la determinación de la materia seca, cenizas, proteína bruta, fibra bruta y grasa por hidrólisis ácida según AOAC (2006) tal como se detalla en los siguientes apartados. La fibra neutro detergente se determinó de acuerdo con Van Soest *et al.* (1991) (ver apartado 4.5.1.4). Los carbohidratos no fibrosos se calcularon por diferencia (Mertens, 1997). El almidón se determinó según el procedimiento de ISO (2000) como se describe en el apartado 4.5.1.5. Los ácidos grasos del aceite fueron metilados y analizados por cromatografía gaseosa (ver apartado 4.5.1.7).

4.5.1.1. Análisis de materia seca

Se pesaron 5 g de muestra en un pesasustancias previamente desecado. El pesasustancias fue introducido en la estufa a 105 °C durante 3 h al cabo de las cuales se enfrió en un desecador durante 30 min y se pesó, repitiendo la operación hasta peso constante. El porcentaje de materia seca de la muestra se calculó restando a 100 la diferencia entre el peso inicial y el peso final de la muestra expresada como porcentaje del peso inicial.

4.5.1.2. Análisis de cenizas

Se pesaron 5 g de muestra en un crisol de porcelana previamente desecado. El crisol fue introducido en un horno mufla a 550 °C hasta la completa incineración del contenido, entonces se enfrió en un desecador y se volvió a pesar. El contenido de cenizas se calculó como porcentaje del peso de las cenizas en la materia seca de la muestra previamente determinada.

4.5.1.3. Análisis de proteína bruta

Se introdujo 1 g en un tubo de digestión al que se añadieron 25 ml de de ácido sulfúrico concentrado y puro y una pastilla de catalizador (96,5 % de sulfato potásico, 1,5 % de sulfato de cobre pentahidratado y 2 % de selenio en tabletas de 1 g). El tubo se colocó en un digestor a 250 °C dentro de la campana de gases hasta que el contenido tomó una coloración amarilla casi transparente. El volumen digerido se vertió en un matraz aforado de 100 ml, se dejó enfriar y se enrasó con agua destilada. Cinco ml de la solución digerida se pusieron en un matraz Kjeldahl con 50 ml de agua destilada, unas gotas de fenolftaleína como indicador y un volumen de hidróxido sódico al 40 % suficiente para provocar el viraje. El matraz se colocó en un aparato semimicro-Kjeldahl para valorar la liberación de amoníaco por neutralización con ácido clorhídrico 1/70 N. La proteína bruta se calculó multiplicando los ml gastados de la solución de ácido clorhídrico por el factor de corrección de esta, previamente determinado, y la constante 2,50075. El resultado se expresó como porcentaje de la materia seca del alimento.

4.5.1.4. Análisis de fibra neutro detergente

Se pesaron 0,5 g de muestra y se pusieron en un matraz erlenmeyer de 500 ml al que se añadieron 100 ml de solución detergente neutra (30 g de lauril sulfato sódico, 18,61 g de EDTA, 6,81 g de borato sódico decahidratado, 4,56 g de fosfato bisódico anhidro y 10 ml de trietilenglicol disueltos en 1000 ml de agua destilada) y 50 µl de amilasa estable al calor. El matraz se calentó hasta ebullición durante 1 h removiendo a intervalos regulares. Se pesó papel de filtro previamente desecado y se colocó en un embudo Buchner y éste sobre un kitasato del sistema de filtración. El filtro se humedeció con agua destilada y se ajustó al embudo. El contenido del matraz erlenmeyer y los lavados de este con agua destilada muy caliente se filtraron. El filtro se colocó sobre un vidrio de reloj y se desecó en la estufa a 80 °C durante 30 min. El contenido de fibra neutro detergente se calculó como el incremento de peso del papel del filtro

debido al residuo insoluble. El resultado se expresó como porcentaje de la materia seca del alimento.

4.5.1.5. Análisis de almidón

Dos gramos y medio de muestra se pusieron en un matraz aforado de 100 ml y se añadieron 50 ml de ácido clorhídrico al 1,128 % agitando para obtener un buen reparto de la muestra. El matraz se sumergió en un baño de agua hirviendo y se agitó enérgicamente durante los primeros minutos. Tras 15 min, el matraz se retiró del baño, se añadieron 30 ml de agua fría y se dejó enfriar hasta 20 °C. Después se añadieron 5 ml de la solución de Carrez I (21,9 g acetato de zinc dihidrato y 3 g de ácido acético glacial disueltos en 100 ml de agua destilada) y se agitó durante 1 min. A continuación se añadieron 5 ml de solución de Carrez II (10,6 g de ferrocianuro de potasio trihidrato disueltos en 100 ml de agua destilada) y se agitó de nuevo durante 1 min. El volumen se completó con agua destilada, se homogeneizó y se filtró. El poder rotatorio del filtrado se midió en un tubo de 200 mm mediante un polarímetro. A continuación, 5 g de muestra se pusieron en un matraz aforado de 100 ml y se añadieron 8 ml de etanol al 40 %. El matraz se dejó reposar durante 1 h a temperatura ambiente agitando enérgicamente 6 veces en ese lapso de tiempo. Después el matraz se enrasó con etanol al 40 %, se homogeneizó el contenido y se filtró. Cincuenta ml de filtrado se pasaron a un matraz erlenmeyer de 250 ml, se añadieron 2,1 ml de ácido clorhídrico al 25 % y se agitó enérgicamente el matraz. El erlenmeyer se sumergió en un baño de agua hirviendo durante 15 min. Tras el baño, el contenido se trasvasó a un matraz aforado de 100 ml lavando con un poco de agua destilada y se dejó enfriar hasta 20 °C. Después se añadieron las soluciones de Carrez I y II, el volumen se completó con agua destilada y el contenido fue filtrado. El poder rotatorio del filtrado se midió en un tubo de 200 mm mediante un polarímetro. El contenido de almidón se calculó dividiendo la diferencia entre el poder rotatorio total y el de las sustancias solubles en etanol al 40 % por la constante asignada al poder rotatorio de las

mezclas de almidones (+184,0^o). El resultado se expresó como porcentaje de la materia seca del alimento.

4.5.1.6. Análisis de grasa por hidrólisis ácida

Se introdujeron 5 g de muestra (heno de alfalfa y concentrados control) ó 2,5 g de muestra (concentrados con aceite añadido) en un vaso de precipitado de 400 ml al que se añadieron 100 ml de ácido clorhídrico 3N y algunas perlas de vidrio. El vaso se cubrió con un vidrio de reloj y la mezcla se llevó a ebullición suave durante 1 h utilizando una placa calefactora. Tras enfriar, se añadió suficiente tierra de diatomeas como coadyuvante de filtración y se filtró por doble papel de filtro humedecido, exento de materias grasas. El residuo filtrado se lavó repetidamente con agua destilada hasta la neutralidad del filtrado. El papel de filtro con el residuo se colocó sobre un vidrio de reloj y se desecó en la estufa a 100 °C durante 90 min. Una vez desecado, el papel de filtro se introdujo en un cartucho de extracción que se cubrió con un tapón de algodón desgrasado y se puso en el extractor Soxhlet. La extracción con éter de petróleo se mantuvo 6 h y el extracto se recogió en un matraz seco, conteniendo algunas perlas de vidrio, previamente pesado. El solvente se evaporó por destilación y el residuo se desecó introduciendo el matraz en la estufa a 100 °C durante 90 min. Tras enfriar en el desecador, el matraz se pesó y se secó nuevamente durante 30 min para asegurar que el peso era constante. El contenido de grasa se calculó como la diferencia entre el peso del matraz y el peso del matraz con el residuo. El resultado se expresó como porcentaje de la materia seca del alimento.

4.5.1.7. Análisis de los ácidos grasos del aceite

La determinación del perfil de ácidos grasos del aceite de lino se llevó a cabo por cromatografía de gases previa conversión de dichos ácidos grasos a ésteres metílicos por el procedimiento de ISO-IDF (2002a). La separación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos se llevó a cabo en idénticas

condiciones cromatográficas a las de la grasa de la leche, que se describen más adelante, en la sección 4.5.4.3.

4.5.2. Medida del consumo de alimentos

En todos los experimentos, el consumo de alimentos se registró diariamente de manera individual para cada cabra. El consumo se calculó como la diferencia entre la ración suministrada y el peso de los restos recogidos en el comedero al día siguiente, antes de la comida de la mañana. Los restos diarios de cada cabra se guardaron hasta el final de los períodos experimentales. Una vez finalizados los experimentos, el conjunto de los restos recogidos de cada cabra se homogeneizó cuidadosamente de forma manual y se tomaron muestras representativas de 1 kg de peso para la determinación, mediante separación manual, de las proporciones de heno de alfalfa y concentrado. El consumo diario de heno de alfalfa y concentrado se calculó como la diferencia entre el peso de ambos ingredientes en el alimento ofrecido y el peso de los mismos en los restos recogidos en los comederos, teniendo en cuenta la proporción calculada de forraje y concentrado en los mismos.

4.5.3. Medida del peso vivo

El peso de las cabras se registró al comienzo y final de cada período experimental. Se utilizó una báscula MOBBA 6010 (MOINCASA, Barcelona) con una precisión de $\pm 0,1$ kg. Las pesadas se realizaron siempre inmediatamente después del ordeño y antes de la primera comida del día.

4.5.4. Producción y composición de la leche

4.5.4.1. Medida de la producción de leche

En los experimentos 1 y 2, la producción individual de leche se midió en los tres últimos días de cada período experimental. El procedimiento consistió en anotar

la hora de finalización del ordeño, pesar la leche (ordeño mecánico + apurado manual), dividir el peso entre las horas transcurridas desde la finalización del ordeño inmediatamente anterior, y multiplicar el resultado por 24. La leche producida se calculó como la media de los valores obtenidos en los días controlados. El último día de cada período experimental, inmediatamente después de pesar la leche, se tomaron cuatro muestras de 50 ml. Dos muestras se conservaron refrigeradas a 4 °C para el análisis inmediato del contenido de grasa, proteína y lactosa. Las dos muestras restantes se conservaron congeladas a -20 °C para el análisis de ácidos grasos.

En los experimentos 3 y 4, las muestras de leche se recogieron en ordeños realizados a la hora 0 (valor inicial) y a 1, 3, 6, 12 y 24 horas después de comenzar la experiencia. Previamente a los ordeños, se suministró una dosis intravenosa de 2 UI de oxitocina a las cabras. Los ordeños a la hora 1, 3, 6 y 12 se realizaron a mano. Los ordeños de las horas 0 y 24 se realizaron con máquina de ordeño y apurado manual posterior.

4.5.4.2. Análisis de la composición de la leche

La composición de las muestras individuales de leche se determinó en los experimentos 1 y 2. El análisis de los contenidos de grasa, proteína total y lactosa se realizó en el laboratorio lechero del Departamento de Producción Animal de la Universidad de Córdoba por espectrofotometría de infrarrojo con un Milkoscan FT120 (Foss Electric, Hillerød, Dinamarca) calibrado para leche de cabra.

4.5.4.3. Contenido de ácidos grasos de la grasa láctea

La composición de ácidos grasos de la grasa láctea de las muestras individuales de leche se determinó en todos los experimentos. La extracción de la grasa se realizó de acuerdo con el procedimiento descrito por Luna *et al.* (2005). Las muestras fueron atemperadas a 20 °C y sometidas a un proceso de

doble centrifugación, primero en una centrífuga Beckman Avanti 30 (Beckman, Fullerton, Estados Unidos y después en una centrífuga Eppendorf 5415D (Eppendorf, Hamburgo, Alemania). La primera centrifugación se realizó en el volumen completo de muestra (35-40 ml) a una velocidad de 17800 g durante 30 min para separar la nata del resto de componentes de la leche. La nata se extrajo con una cucharilla metálica y se introdujo en microtubos de centrífuga de 2 ml que se centrifugaron a 19300 g durante 20 min para separar la grasa de la fracción no grasa. La grasa se extrajo cuidadosamente con una micropipeta y se depositó en viales ambarinos que se almacenaron a -20°C hasta la metilación.

Los ésteres metílicos se prepararon mediante metanólisis básica de los triacilgliceroles usando KOH disuelto en metanol (ISO-IDF, 2002a). El análisis de los ésteres metílicos se realizó por cromatografía de gases de acuerdo al procedimiento descrito por De la Fuente *et al.* (2015). Se utilizaron dos equipos cromatográficos. El primero fue un modelo Agilent 6890 N Network System, (Palo Alto, Estados Unidos) equipado con autoinyector y detector de ionización de llama. En este equipo se insertó una columna de sílice fundida CP-Sil 88 (100 m x 0.25 mm de diámetro interno, Varian, Middelburg, Holanda). La temperatura del inyector y del detector fueron de 250°C. El gas portador fue helio con una presión en cabeza de columna de 193 kPa. La relación del divisor de flujo del inyector fue 1:100. El programa de temperatura del horno fue:

Temperatura inicial: 45°C durante 4 minutos.

1ª Rampa: 13°C/min hasta 165°C.

Segunda temperatura: 165°C durante 35 minutos.

2ª Rampa: 4°C/min hasta 215°C.

Tercera temperatura: 215°C durante 30 min.

En el segundo equipo (Agilent model 7820 GC System) se insertó una columna capilar con fase líquida extremadamente polar (SLB-IL111, 100 m x 0.25 mm de diámetro interno, Supelco, Estados Unidos). La temperatura del inyector y del detector fueron de 250°C. El gas portador fue helio con una presión en cabeza

de columna de 241 kPa y la relación del divisor de flujo del inyector fue 1:100.

El programa de temperatura del horno fue:

Temperatura inicial: 168°C durante 45 minutos.

1ª Rampa: 5°C/min hasta 210°C.

Segunda temperatura: 210°C durante 37 minutos.

La identificación de los ácidos grasos más comunes se llevó a cabo por comparación con mezclas de patrones comerciales (Nu-Chek Prep. Inc., Elysian, Estados Unidos) que fueron analizados en idénticas condiciones cromatográficas. Aquellos picos desconocidos no identificados por este procedimiento se analizaron por espectrometría de masas. Para ello se utilizó un cromatógrafo de gases Agilent modelo 7890A provisto de un detector de masas (5975C inert MSD). Las condiciones cromatográficas fueron similares las descritas anteriormente para análisis con columnas CP-Sil 88 and SLB-IL111 excepto la relación del divisor de flujo que en este caso fue 1:25. Se emplearon como bibliotecas de espectros la Wiley 275 y NIST 05. Finalmente en aquellos casos en que la estructura del componente desconocido no se podía determinar, la identificación se basó en la comparación con cromatogramas publicados previamente en condiciones similares.

La cuantificación de los ésteres metílicos de ácidos grasos individuales se realizó con referencia a una grasa láctea de composición certificada (CRM 164; European Community Bureau of Reference, Brussels, Belgium), de acuerdo con ISO-IDF (2002b). Para lograr una determinación completa del perfil de ácidos grasos, se combinaron los resultados de las dos columnas. Los resultados obtenidos con la CP-Sil 88 fueron utilizados como la principal referencia mientras los datos de SLB-IL111 se emplearon como complementarios. Los resultados de la columna CP-Sil 88 permitieron el cálculo de ésteres metílicos como porcentaje de ésteres metílicos totales tal como describe la norma ISO-IDF (2002b) mientras que los cromatogramas realizados con la columna SLB-IL111 se utilizaron para calcular los porcentajes de aquellos ácidos grasos que no podían separarse con CP-Sil 88 de acuerdo con los cálculos descritos en De la Fuente *et al.* (2015).

4.5.4.4. Otros cálculos

La energía de la leche se determinó a partir del porcentaje de grasa láctea según la ecuación de Morand-Fehr y Sauvant (1978).

Los valores relativos de Δ -9 desaturación y elongación se calcularon con la relación producto/(producto + sustrato) propuesta por Kelsey *et al.* (2003). La relación existente entre el producto y el sustrato se investigó por regresión lineal (Palmquist *et al.*, 2004).

La producción de ácidos grasos en g/d se calculó a partir de la producción de leche y su perfil de ácidos grasos, asumiendo que los ácidos grasos suponen el 93,3% de la grasa láctea (Glasser *et al.*, 2007).

El índice de aterogenicidad de la grasa láctea se calculó con sus contenidos de los ácidos láurico, mirístico y palmítico, y los contenidos totales de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados, de acuerdo con Ulbricht y Southgate (1991).

Las proporciones molares de acetato, propionato y butirato en los ácidos grasos volátiles del rumen se estimaron con los contenidos de C14:0 iso, C15:0 y la suma de C17:0 y C17:1 *cis*-9 de la grasa láctea, aplicando la ecuación de Bhagwat *et al.* (2012).

La producción de metano se calculó a partir de los contenidos de C16:0 iso, C18:1 *trans*-10, C18:1 *trans*-11 y C18:2 *cis*-9,*cis*-12 de la grasa láctea, según la ecuación de Van Lingen *et al.* (2014), los contenidos de C17:0 anteiso, C18:1 *trans*-10+11, C18:1 *cis*-11 y C18:1 *cis*-13, según la ecuación de Dijkstra *et al.* (2011), y el consumo de fibra neutro detergente, de acuerdo con la ecuación de Patra y Lalhriatpuii (2016).

4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El estudio estadístico se realizó con el programa SAS University Edition 3.5 (SAS Institute Inc., Cary, USA). En todas las pruebas el nivel de significación se estableció en $P < 0,05$, mientras que los valores $0,05 \leq P < 0,10$ se consideraron tendencias. Los resultados presentados en las tablas son medias de mínimos cuadrados. Los procedimientos utilizados se describen a continuación.

Experimentos 1 y 2

Se utilizó el procedimiento MIXED para el análisis de los datos de cada experimento (Littell *et al.*, 2002). El modelo fue: $Y_{ijklm} = \mu + T_i + P_j + S_k + C_l(S)_k + e_{ijklm}$, donde Y_{ijklm} = variable dependiente, μ = media general, T_i = efecto fijo del tratamiento ($i = 1$ a 2), P_j = efecto fijo del período ($j = 1$ a 2), S_k = efecto fijo de la secuencia ($k = 1$ a 2), $C_l(S)_k$ = efecto aleatorio del animal ($l = 1$ a 4) anidado dentro de la secuencia k , e_{ijklm} = error residual. El procedimiento GLM se utilizó cuando fue necesaria la comparación entre los tratamientos análogos de cada experimento, de acuerdo con el modelo: $Y_i = \mu + T_i$, donde Y_i , μ y T_i se han definido anteriormente.

Las ecuaciones de regresión lineal simple entre los contenidos de determinados ácidos grasos y sus precursores y/o derivados en la grasa láctea se obtuvieron con el procedimiento REG.

Las correlaciones entre los contenidos de los ácidos grasos de la leche derivados de la síntesis bacteriana ruminal (Vlaeminck *et al.*, 2006a) y los ácidos intermediarios de las rutas principales y alternativas de la biohidrogenación ruminal (Harfoot y Hazlewood, 1997; Griinari y Bauman, 1999) se investigaron mediante el procedimiento CORR.

El análisis de componentes principales se realizó con el procedimiento FACTOR. En este análisis, se utilizaron como variables los contenidos de todos los ácidos grasos en la grasa láctea de ambos experimentos. La comunalidad inicial para cada variable se estableció en 1. Los componentes principales se extrajeron con la opción PRIN y se rotaron ortogonalmente con la opción VARIMAX. El número de componentes principales se estableció de acuerdo con el criterio de interpretabilidad (Suhr, 2005). Para confirmar las relaciones entre los conglomerados de las observaciones y los tratamientos experimentales y facilitar la interpretación de los resultados obtenidos, las puntuaciones factoriales de las observaciones en los componentes rotados se sometieron a análisis de la varianza con el procedimiento ANOVA, usando los tratamientos como efecto, y los pares de medias se compararon mediante la prueba t de Student.

Para el análisis discriminante lineal, se utilizaron los datos de ambos experimentos. En primer lugar, se empleó el procedimiento STEPDISC para seleccionar qué ácidos grasos relacionados con la síntesis lipídica microbiana – C15:0, C17:0 + C17:1 *cis*-9, y ácidos grasos ramificados de 13 a 18 átomos de carbono (Vlaeminck *et al.*, 2006a; Fievez *et al.*, 2012)- deberían ser incluidos en el modelo como variables predictoras. La probabilidad de las variables para entrar y permanecer en el modelo se fijó en 0,10 y 0,20, respectivamente. A continuación, se utilizó el procedimiento DISCRIM para obtener las funciones discriminantes lineales de Fisher. En este procedimiento, se incluyó la opción CROSSVALIDATE para comprobar la robustez de las funciones obtenidas.

Experimentos 3 y 4

Se utilizó el procedimiento MIXED para el análisis de los datos con el método de medidas repetidas (Littell *et al.*, 2006). El modelo estadístico fue: $Y_{ijklmn} = \mu + T_i + H_j + P_k + S_l + TH_{ij} + C_m(TPS)_{ikl} + e_{ijklmn}$, donde Y_{ijklmn} = variable dependiente, μ = media general, T_i = efecto fijo del tratamiento ($i = 1$ a 2), H_j = efecto fijo de la hora ($j = 1$ a 6), P_k = efecto fijo del período ($k = 1$ a 2), S_l = efecto fijo de la

secuencia, TH_{ij} = efecto fijo de la interacción tratamiento x hora, y $C_m(TPS)_{ikl}$ = efecto aleatorio del animal ($i = 1$ a 4), anidado dentro de la interacción tratamiento x período x secuencia, e_{ijklmn} = error residual. La medida repetida fue la hora y el sujeto de las medidas repetidas fue el animal anidado dentro de la interacción tratamiento x período x secuencia. La estructura de la covarianza para medidas desigualmente espaciadas en el tiempo se modeló con las opciones CS (compound symmetry) y SP (spatial power) y se escogió la que tuvo el valor más pequeño en el criterio de información bayesiano de Schwarz. En cada experimento, las medias de mínimos cuadrados de la interacción tratamiento x tiempo se compararon dentro de cada tratamiento con la hora 0 y entre tratamientos a cada hora mediante la opción CONTRAST del procedimiento MIXED.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aceite de lino en cabras

5.1. COMPOSICIÓN DE LAS RACIONES EXPERIMENTALES

5.1.1. Resultados

El heno de alfalfa utilizado en los experimentos fue de elevado valor nutritivo y excelente calidad organoléptica (**Tabla 4.1**). En el aceite de lino, el contenido de ácido α -linolénico representó prácticamente la mitad de los ácidos grasos totales, mientras que los ácidos oleico y linoleico se encontraron en cantidades similares entre si y muy inferiores a la del ácido α -linolénico (**Tabla 4.2**).

La durabilidad de los gránulos de los concentrados, medida en fábrica, fue superior a un 96% en todos los casos. No se observaron olores anormales relacionados con el posible enranciamiento durante el tiempo que duraron las experiencias. Todos los concentrados tuvieron un contenido proteico similar y, como era de esperar, los concentrados de los tratamientos con aceite de lino presentaron un mayor contenido de grasa (**Tabla 4.3**). Las mayores diferencias se observaron en las proporciones de almidón y fibra neutro detergente. La inclusión de cascarilla de soja, reemplazando a los cereales, duplicó el contenido de fibra neutro detergente de los concentrados del experimento 2. El almidón representó un 87 y 75% de los carbohidratos no fibrosos en los concentrados de los experimentos 1 y 2, respectivamente (**Figura 5.1**).

A partir de las **Tablas 4.1 y 4.4**, se calculó que el heno de alfalfa aportó un 17,2% de la fibra neutro detergente en todas las raciones y este valor supuso un 62 y 43% de la fibra neutro detergente de las raciones de los experimentos 1 y 2, respectivamente. El contenido de fibra neutro detergente de las raciones del experimento 1 fue en torno a un tercio inferior al de las raciones del experimento 2, mientras que lo contrario fue cierto para los contenidos de carbohidratos no fibrosos. La relación almidón/fibra neutro detergente fue 1,2 en las raciones del experimento 1 y cayó hasta 0,5 en las raciones del experimento 2 (**Figura 5.1**).

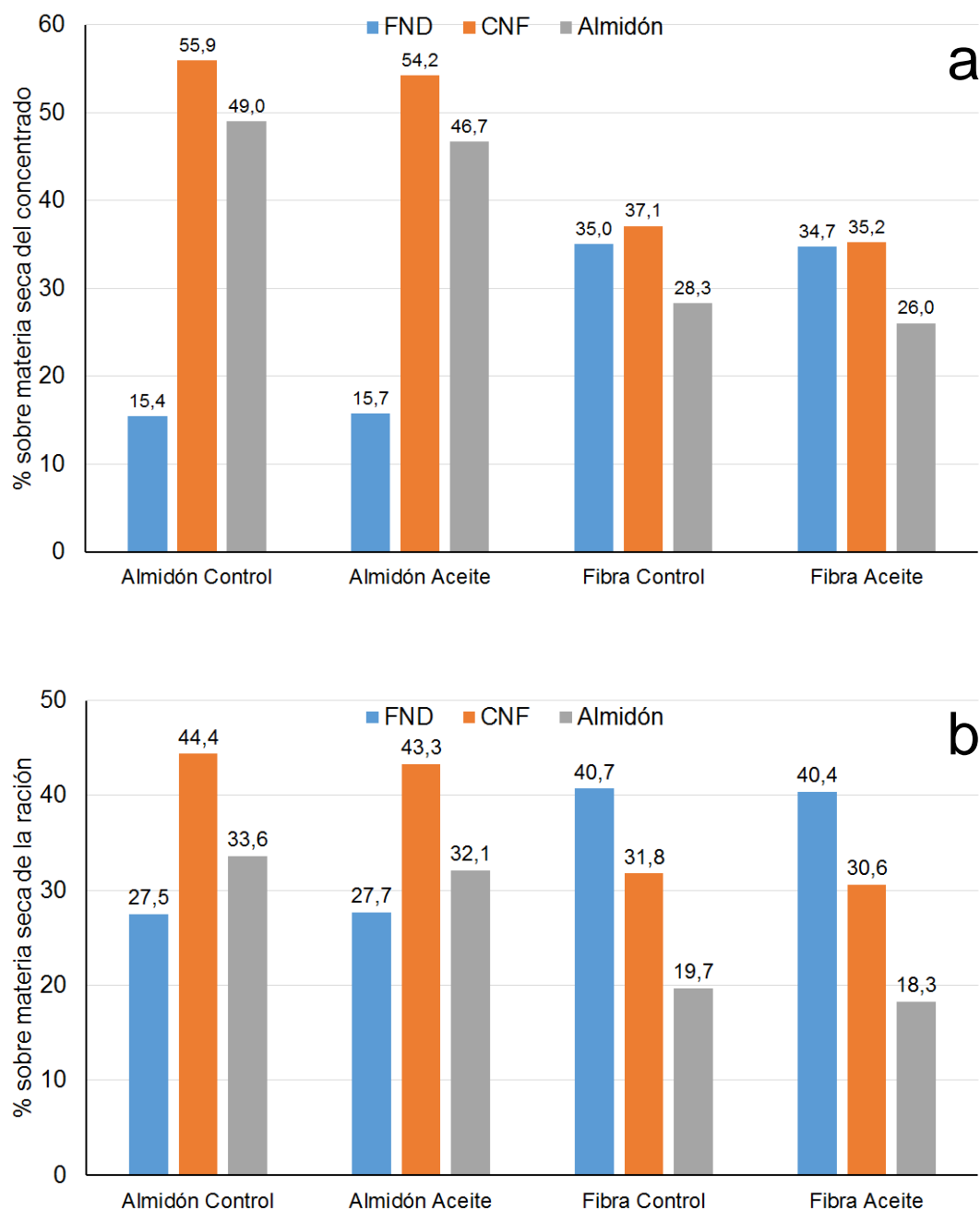


Figura 5.1. Carbohidratos de los concentrados (a) y las raciones (b) experimentales. FND: fibra neutro detergente; CNF: carbohidratos no fibrosos

El aporte de ácidos grasos de las raciones control fue similar en ambos experimentos, con diferencias comprendidas entre 0,2 y 0,6 g/d (**Tabla 4.4**, **Figura 5.2**). El ácido linoleico fue claramente mayoritario ya que ninguno de los

restantes ácidos grasos cuantitativamente relevantes alcanzó un contenido superior a un 40% del de aquel. La inclusión de aceite de lino prácticamente duplicó el aporte de ácido oleico, aumentó un 36% el aporte de ácido linoleico y cuadruplicó el aporte de ácido α -linolénico. De esta forma, por término medio, las raciones con aceite de ambos experimentos resultaron en aportes equilibrados de los ácidos linoleico y α -linolénico (18,5 y 17,8 g/d, respectivamente), con aportes algo menores de ácido oleico (11,6 g/d).

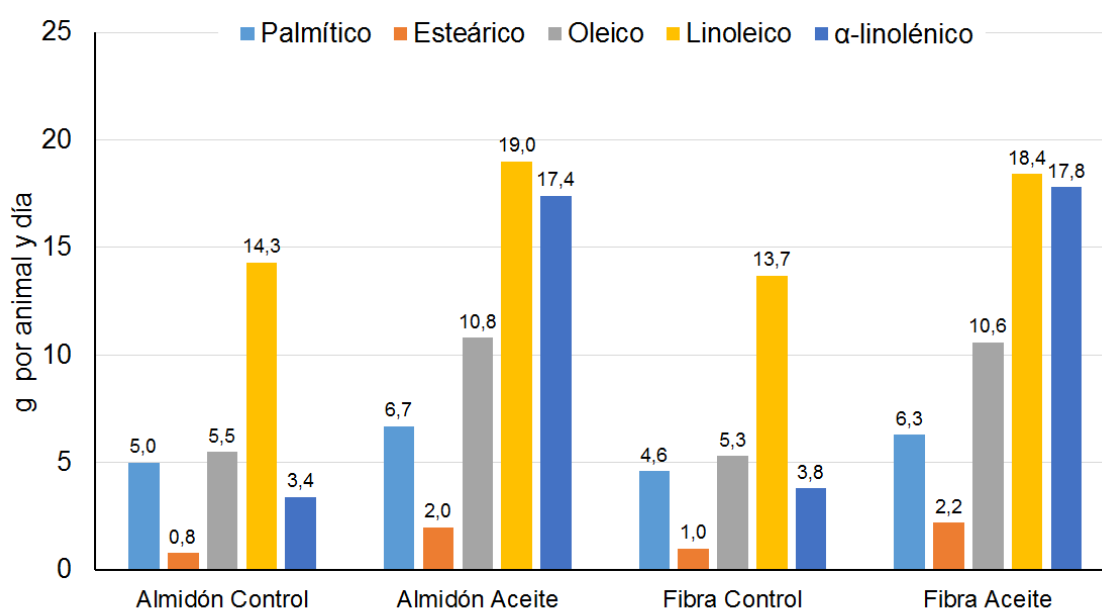


Figura 5.2. Aportes de ácidos grasos de las raciones experimentales.

Respecto al valor nutritivo (**Tabla 4.4**), el contenido de proteína bruta fue similar en las raciones, con diferencias inferiores a un 2%. El valor energético calculado de las raciones con aceite fue un 3,5% superior al de las raciones control, debido a su mayor contenido graso. Todas las raciones mostraron un leve desequilibrio en los aportes de energía y proteína para el crecimiento microbiano ruminal. Teniendo este aspecto en consideración, el contenido medio calculado de proteína metabolizable en las raciones fue 104 g/kg.

5.1.2. Discusión

Las mismas raciones fueron utilizadas en todos los experimentos de la presente Tesis. La cantidad de aceite de lino suministrada a los animales fue ligeramente inferior a la de los niveles alto y bajo de los trabajos de Nudda *et al.* (2006) y Martínez Marín *et al.* (2012), respectivamente, y muy baja en comparación con el trabajo de Bernard *et al.* (2009c). El porcentaje de aceite de las raciones fue un 1,6%, muy inferior al nivel 4% por encima del cual se pueden esperar efectos negativos sobre la digestibilidad de la ración, de acuerdo con Martínez Marín *et al.* (2011b).

Todas las raciones aportaron igual cantidad de forraje y concentrado, en una proporción 33/67, igual a la de los experimentos de Martínez Marín *et al.* (2012 y 2013a). Los concentrados se diseñaron para maximizar sus diferencias en las proporciones de carbohidratos digestibles en rumen (**Tabla 4.3, Figura 5.1**). Por otro lado, la combinación a partes iguales de cebada y maíz contribuyó al aporte equilibrado de almidones con diferente velocidad de degradación ruminal (INRA, 2002). En el concentrado del experimento 2, la sustitución de partes iguales de cebada y maíz por cascarilla de soja, cuyo contenido de almidón es nulo, no debió alterar el patrón teórico de degradación ruminal del almidón, pero redujo un 30% la cantidad del mismo suministrada a los animales e invirtió el valor de la relación fibra neutro detergente/carbohidratos no fibrosos, en comparación con las raciones del experimento 1. Por otro lado, la materia seca de la cascarilla de soja se caracteriza por un elevado contenido en fibra neutro detergente (63%) y un bajo contenido en lignina (2,3%) (INRA, 2002), por lo que su degradabilidad ruminal es elevada (Ipharraguerre y Clark, 2003). Por ello, es de esperar que no hubiera diferencias en la digestibilidad de la materia orgánica entre experimentos por la inclusión de cascarilla de soja (Zervas *et al.*, 1998). Adicionalmente, el heno de alfalfa no debió ser un factor de interferencia en el aprovechamiento de las raciones porque la cantidad suministrada fue igual en todos los tratamientos. El heno de alfalfa supuso la mayor contribución al contenido de fibra neutro detergente físicamente efectiva de todas las raciones,

con un 16%, mientras que los concentrados contribuyeron con un 3 y 7% en las raciones de los experimentos 1 y 2, respectivamente (Mertens, 1997). El contenido de almidón degradable en rumen fue aproximadamente un 25% en las raciones del experimento 1 y un 13% en las del experimento 2 (INRA, 2002), por lo que la relación fibra neutro detergente físicamente efectiva/almidón degradable en rumen tuvo valores de 0,76 en las primeras y 0,92 en las segundas. Estos valores fueron muy diferentes del valor 1,43 recomendado por Li *et al.* (2014b) para evitar el riesgo de acidosis ruminal en cabras. Sin embargo, nosotros no observamos ningún efecto adverso en los animales ni en sus resultados productivos (ver más adelante). Es más, los contenidos de carbohidratos no fibrosos en nuestras raciones fueron iguales o inferiores a los de las raciones del trabajo de Zhao *et al.* (2011), mientras que los de fibra neutro detergente físicamente efectiva fueron superiores a los que mantuvieron el pH ruminal de las cabras por encima de 5,8 durante más de 22 horas diarias en el trabajo de dichos autores (valores inferiores indicarían riesgo de acidosis ruminal). A pesar de lo anterior, es probable que el pH ruminal medio diario de las cabras fuera inferior en el experimento 1, de acuerdo con las observaciones de Desnoyers *et al.* (2008) y Sun *et al.* (2010).

Hay que destacar que estudios previos realizados con cabras han investigado exclusivamente el efecto de la relación forraje/concentrado y la presentación del forraje de la ración sobre la producción y la composición de la leche (Álvarez *et al.*, 2007; Serment *et al.*, 2011; Tufarelli *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2014a). Muy recientemente, Ibañez *et al.* (2015a, 2015b) reportaron los efectos de reemplazar los cereales por fuentes de fibra neutro detergente digestible. Otros estudios han dirigido su atención a los efectos de la interacción entre los carbohidratos de la ración y la adición de fuentes vegetales de grasa a la misma sobre el perfil de ácidos grasos de la leche, centrándose en la variación de la proporción forraje/concentrado (Mele *et al.*, 2008; Ollier *et al.*, 2009), el tipo y características del forraje utilizado (Bernard *et al.*, 2009c), o las características del almidón del concentrado (Bernard *et al.*, 2012).

En conclusión, en comparación con la bibliografía, una característica singular de nuestros trabajos experimentales fue el empleo de raciones con igual proporción forraje, pero cuyos concentrados tuvieron diferentes proporciones de carbohidratos fibrosos y no fibrosos. Las diferencias en los contenidos de fibra neutro detergente y almidón de las raciones, debidas al tipo de concentrado incluido en las mismas, debió causar que el ambiente ruminal fuera distinto entre los animales que las consumieron.

5.2. EXPERIMENTOS 1 Y 2

5.2.1. Resultados

5.2.1.1. Parámetros productivos

Al final de los experimentos, las cabras mostraron un peso vivo mayor que al comienzo de los mismos ($54,1 \pm 3,63$ vs $52,9 \pm 3,71$ kg). El consumo total y de heno de alfalfa y concentrado no fue diferente ($P > 0,05$) entre los tratamientos de cada experimento (**Tabla 5.1**). El consumo de aceite de lino, calculado a partir de las **Tablas 4.4** y **5.1**, fue muy próximo al consumo planeado en el diseño experimental: 28 y 29 g/d en los experimentos 1 y 2, respectivamente.

Tabla 5.1. Consumo de alimentos y producción y composición de la leche de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). EEM: error estándar de la media.

	Experimento 1				Experimento 2			
	Almidón Control	Almidón Aceite	EEM	P	Fibra Control	Fibra Aceite	EEM	P
Consumo ¹ , g/d								
Ración	1685	1645	31,9	0,28	1708	1722	27,2	0,67
Heno alfalfa	544	519	16,0	0,32	548	536	14,7	0,27
Concentrado	1142	1125	17,6	0,26	1160	1186	14,4	0,29
Leche, g/d	1552	1463	154,5	0,37	1227	1326	93,4	0,30
Grasa, %	4,01	3,83	0,098	0,13	4,32	4,89	0,139	<0,05
Grasa, g/d	59	52	4,4	0,06	52	63	4,9	0,08
Proteína, %	3,57	3,49	0,092	0,52	3,61	3,60	0,041	0,83
Proteína, g/d	52	48	3,8	0,23	43	46	2,8	0,31
Lactosa, %	4,84	4,98	0,047	<0,01	4,87	4,95	0,048	0,08
Lactosa, g/d	73	70	7,2	0,69	58	63	4,3	0,24
Energía ² , kJ/d	286	264	24,3	0,17	240	282	20,7	0,11

¹Expresado sobre peso seco al aire.

² $[(\text{grasa}_{\%} \times 28,131) + 74,785] \times \text{leche}_{\text{kg/d}}$, según Morand-Fehr y Sauvant (1978).

La producción y composición de la leche de los experimentos 1 y 2 se muestra en la **Tabla 5.1**. En el experimento 1, no se observaron diferencias ($P > 0,05$) en la producción de leche, los porcentajes de grasa y proteína de la leche y la producción de grasa, proteína y lactosa entre los tratamientos, mientras que el porcentaje de lactosa fue mayor ($P < 0,05$) en el tratamiento con aceite. En el experimento 2, no hubo diferencias ($P > 0,05$) en la producción de leche, el porcentaje de proteína de la leche y la producción de proteína y lactosa entre los tratamientos, mientras que el porcentaje de grasa fue mayor ($P < 0,05$) y el porcentaje de lactosa y la producción de grasa tendieron a ser mayores ($P = 0,08$) en el tratamiento con aceite. En ambos experimentos, el valor energético de la leche no fue diferente ($P > 0,05$) entre tratamientos. De acuerdo con los valores medios de peso vivo y producción y composición de la leche, las necesidades calculadas de energía neta de lactación y proteína metabolizable de las cabras fueron en promedio 9,96 MJ/d y 115 g/d, respectivamente.

5.2.1.2. Ácidos grasos de la grasa láctea

Composición de la grasa láctea

Se cuantificaron 110 ácidos grasos en la grasa láctea (**Tablas 5.2 a 5.9**): 35 ácidos grasos saturados con cuatro a 24 átomos de carbono, 44 monoinsaturados de 10 a 24 átomos de carbono, 16 diinsaturados de 18 átomos de carbono y uno de 16 átomos de carbono, y 14 poliinsaturados de 18 a 22 átomos de carbono. La adición de aceite de lino a las raciones modificó los contenidos de 62 ácidos grasos en el experimento 1 y 64 en el experimento 2. Comparando ambos experimentos, los cambios fueron comunes en 44 ácidos grasos (34 respuestas positivas y 10 negativas) y opuestos en dos ácidos grasos. Respecto a los cambios exclusivos de cada experimento, el aceite de lino causó que los contenidos de 11 y cinco ácidos grasos aumentaran y disminuyeran, respectivamente, solo en el experimento 1, y los de otros cinco y 10 ácidos grasos aumentaron y disminuyeran, respectivamente, únicamente en el experimento 2.

Tabla 5.2. Sumatorios (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los principales grupos de ácidos grasos de la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). EEM: error estándar de la media.

	Experimento 1				Experimento 2			
	Almidón Control	Almidón Aceite	EEM	P	Fibra Control	Fibra Aceite	EEM	P
Saturados								
Lineales pares	70,03	65,18	0,823	<0,001	70,52	65,31	0,904	<,001
Lineales impares	1,40	1,70	0,055	<0,01	1,80	1,69	0,054	0,17
Iso	0,61	0,58	0,024	0,49	0,77	0,68	0,029	<0,05
Anteiso	0,48	0,52	0,021	0,40	0,60	0,52	0,034	<0,05
Otros ramificados	0,10	0,11	0,008	0,33	0,10	0,10	0,005	0,85
Total	72,62	68,06	0,795	<0,001	73,84	68,28	0,916	<0,001
Monoinsaturados								
C18:1 <i>cis</i>	16,86	17,60	0,548	0,40	16,40	16,53	0,505	0,86
C18:1 <i>trans</i>	3,61	5,72	0,346	<0,001	2,40	5,68	0,465	<0,001
Total <i>cis</i>	18,81	19,25	0,528	0,60	18,52	18,37	0,549	0,83
Total <i>trans</i>	4,00	6,31	0,373	<0,001	2,73	6,18	0,487	<0,001
Total	22,81	25,56	0,588	<0,001	21,32	24,56	0,659	<0,01
Poliinsaturados								
C18:2 no conjugados	2,63	3,46	0,152	<0,001	2,94	3,72	0,133	<0,01
C18:2 conjugados	1,00	1,44	0,076	<0,001	0,69	1,57	0,135	<0,001
Total C18:3	0,47	0,99	0,074	<0,001	0,62	1,42	0,120	<0,001
Total	4,54	6,28	0,274	<0,001	4,76	7,17	0,358	<0,001
Relaciones								
Índice de aterogenicidad ¹	2,70	2,00	0,120	<0,001	2,77	1,98	0,121	<0,001
n-6/n-3 ²	4,05	2,10	0,281	<0,001	3,80	1,59	0,301	<0,001

¹(C12:0 + 4 x C14:0 + C16:0)/(monoinsaturados + poliinsaturados), según Ulbricht y Southgate (1991).

²Relación entre las sumas de los ácidos grasos n-6 y n-3.

En ambos experimentos, la adición de aceite de lino a la ración redujo ($P < 0,05$) el contenido de ácidos grasos saturados, elevó ($P < 0,05$) el de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados en la grasa láctea, y disminuyó ($P < 0,05$) el valor del índice de aterogenicidad y el de la relación entre los ácidos grasos n-6 y n-3 (**Tabla 5.2**).

Ácidos grasos saturados de cadena lineal

Los contenidos de los ácidos grasos saturados de cadena lineal representaron en torno a un 96% del contenido total de ácidos grasos saturados en la grasa láctea de los tratamientos de ambos experimentos y fueron mayoritariamente de cadena par (**Tabla 5.2**). Los ácidos palmítico, cáprico y mirístico fueron mayoritarios y sumaron un 43-49% de los ácidos grasos totales (**Tabla 5.3**). En ambos experimentos, se observó que la presencia de aceite de lino en la ración no afectó ($P > 0,05$) a los contenidos de los ácidos butírico, caproico y cáprico en la grasa láctea, pero redujo ($P < 0,05$) los de los ácidos láurico, mirístico y palmítico, y aumentó ($P < 0,05$) el de ácido cetosteárico (C18:0 cet-10). El aceite tendió a aumentar ($P = 0,06$) el contenido de ácido esteárico en el experimento 1 y redujo ($P < 0,05$) el de ácido cáprico en el experimento 2.

Los contenidos de los ácidos grasos saturados de cadena impar sumaron entre un 1,9 y 2,5% del contenido total de ácidos grasos saturados en la grasa láctea de los tratamientos de ambos experimentos (**Tabla 5.2**), representando la suma de los contenidos de C15:0 y C17:0 aproximadamente tres cuartas partes de dichos valores (**Tabla 5.3**). En el experimento 1, se observó una elevación ($P < 0,05$) de los contenidos de todos los ácidos grasos de este grupo, excepto C13:0 ($P > 0,05$), en el tratamiento con aceite. Por el contrario, en el experimento 2, la única respuesta de dichos ácidos grasos al aceite de lino fue una bajada ($P < 0,05$) del contenido de C17:0.

La mayoría de los valores de los índices de Δ -9 desaturación de los ácidos grasos saturados respondieron de forma diferente en los tratamientos con

aceite de ambos experimentos (**Tabla 5.4**). En el experimento 1, la adición de aceite de lino redujo ($P < 0,05$) los valores del índice de Δ -9 desaturación de los ácidos mirístico, palmítico, esteárico y C17:0. En el experimento 2, el tratamiento con aceite únicamente tendió a disminuir ($P = 0,06$ y $P = 0,09$) los valores de los índices de Δ -9 desaturación de C17:0 y C18:0.

Tabla 5.3. Contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de ácidos grasos saturados lineales, pares e impares, en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). EEM: error estándar de la media.

	Experimento 1				Experimento 2			
	Almidón Control	Almidón Aceite	EEM	P	Fibra Control	Fibra Aceite	EEM	P
C4:0	2,97	3,03	0,076	0,52	2,66	2,71	0,052	0,49
C5:0	0,02	0,03	0,002	<0,01	0,02	0,02	0,002	0,16
C6:0	3,17	3,20	0,059	0,66	3,06	3,12	0,047	0,41
C7:0	0,02	0,04	0,003	<0,001	0,03	0,04	0,003	0,15
C8:0	3,32	3,39	0,054	0,59	3,42	3,51	0,061	0,38
C9:0	0,04	0,07	0,005	<0,001	0,05	0,06	0,005	0,17
C10:0	11,04	10,50	0,199	0,16	11,97	11,40	0,211	<0,05
C11:0	0,06	0,09	0,006	<0,01	0,08	0,09	0,005	0,66
C12:0	4,56	4,11	0,144	<0,05	5,27	4,36	0,177	<0,01
C13:0	0,09	0,09	0,004	0,28	0,11	0,10	0,005	0,28
C14:0	10,01	8,92	0,179	<0,001	9,59	8,27	0,227	<0,01
C15:0	0,62	0,75	0,027	<0,01	0,81	0,76	0,027	0,13
C16:0	28,19	23,91	0,742	<0,001	28,19	24,86	0,639	<0,01
C17:0	0,44	0,50	0,015	<0,05	0,56	0,49	0,011	<0,001
C18:0	6,57	7,85	0,384	0,06	6,12	6,76	0,255	0,20
C19:0	0,07	0,07	0,004	0,77	0,07	0,06	0,003	<0,05
C20:0	0,12	0,14	0,004	0,06	0,14	0,13	0,005	0,17
C21:0	0,03	0,04	0,002	<0,01	0,04	0,05	0,003	0,16
C22:0	0,03	0,03	0,001	0,45	0,05	0,04	0,004	<0,01
C23:0	0,02	0,02	0,001	<0,05	0,03	0,02	0,002	<0,05
C24:0	0,01	0,01	0,001	0,15	0,02	0,02	0,002	0,42
C18:0 ceto-10	0,05	0,08	0,008	<0,05	0,03	0,11	0,015	<0,01

Tabla 5.4. Índices de Δ -9 desaturación (producto/producto+sustrato) de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y diinsaturados de la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o en fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). EEM: error estándar de la media.

	Experimento 1				Experimento 2			
	Almidón Control	Almidón Aceite	EEM	P	Fibra Control	Fibra Aceite	EEM	P
C12:0	0,007	0,007	0,0004	0,81	0,008	0,007	0,0006	0,19
C14:0	0,015	0,013	0,0008	<0,05	0,015	0,014	0,0008	0,13
C16:0	0,024	0,021	0,0010	<0,01	0,025	0,023	0,0012	0,25
C17:0	0,307	0,261	0,0070	<0,001	0,274	0,242	0,0090	0,06
C18:0	0,711	0,673	0,0070	<0,01	0,715	0,695	0,0132	0,09
C18:1 <i>cis</i> -12	0,893	0,782	0,0159	<0,001	0,912	0,810	0,0157	<0,001
C18:1 <i>cis</i> -15	0,283	0,219	0,0132	<0,01	0,265	0,270	0,0140	0,85
C18:1 <i>trans</i> -7	0,401	0,443	0,0154	0,09	0,369	0,407	0,0116	0,06
C18:1 <i>trans</i> -11	0,333	0,297	0,0073	<0,05	0,360	0,311	0,0098	<0,05
C18:1 <i>trans</i> -12	0,072	0,059	0,0032	0,06	0,090	0,071	0,0057	<0,05
C18:2 <i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15	0,328	0,100	0,0372	<0,01	0,417	0,104	0,0440	<0,001

Ácidos grasos ramificados

Los contenidos de los ácidos grasos de cadena ramificada representaron entre un 1,6 y 2,0% del contenido total de ácidos grasos saturados en la grasa láctea de los tratamientos de ambos experimentos (**Tabla 5.2**). Los contenidos de los ácidos grasos iso y anteiso sumaron más de un 90% del total del grupo, destacando C17:0 iso, C17:0 anteiso y C15:0 anteiso por sus contenidos relativamente más elevados (**Tabla 5.5**). El contenido restante correspondió a ácidos grasos ramificados no terminales, siendo metildecanoato el más abundante (47% del grupo). En el experimento 1, la adición de aceite de lino a la ración aumentó ($P < 0,05$) los contenidos de 4-metiloctanoato, 4-metildodecanoato y C13:0 anteiso en la grasa láctea y redujo ($P < 0,05$) el de C17:0 iso. En el experimento 2, el aceite causó una disminución ($P < 0,05$) de

los contenidos de 4-6-dimetiloctanoato, C13:0 iso, C17:0 anteiso y C18:0 iso, así como de la suma de los contenidos de los ácidos grasos iso y anteiso en la grasa láctea.

Tabla 5.5. Contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de ácidos grasos ramificados, pares e impares, en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). EEM: error estándar de la media.

	Experimento 1				Experimento 2			
	Almidón Control	Almidón Aceite	EEM	P	Fibra Control	Fibra Aceite	EEM	P
4-metiloctanoato	0,02	0,03	0,003	<0,05	0,03	0,03	0,001	0,79
4-6-dimetiloctanoato	0,02	0,02	0,003	0,24	0,01	0,01	0,002	<0,05
Metildecanoato	0,04	0,05	0,004	0,35	0,05	0,05	0,002	0,22
4-metildodecanoato	0,01	0,01	0,001	<0,05	0,01	0,01	0,001	0,83
C13:0 iso	0,01	0,01	0,001	0,84	0,02	0,01	0,001	<0,01
C13:0 anteiso	0,01	0,01	0,001	<0,05	0,01	0,01	0,001	0,97
C14:0 iso	0,03	0,04	0,001	0,23	0,07	0,07	0,003	0,86
C15:0 iso	0,14	0,15	0,007	0,54	0,17	0,15	0,010	0,23
C15:0 anteiso	0,22	0,24	0,010	0,41	0,30	0,28	0,018	0,06
C16:0 iso	0,15	0,14	0,011	0,87	0,19	0,17	0,008	0,11
C17:0 iso	0,23	0,21	0,008	<0,05	0,27	0,24	0,010	0,11
C17:0 anteiso	0,26	0,27	0,012	0,46	0,29	0,24	0,018	<0,05
C18:0 iso	0,04	0,03	0,003	0,07	0,05	0,03	0,002	<0,001
Índices de elongación¹								
C17:0 iso ¹	0,63	0,59	0,012	<0,05	0,62	0,62	0,010	0,62
C17:0 anteiso ²	0,54	0,53	0,006	0,56	0,49	0,45	0,010	0,06

¹A partir de Kelsey *et al.* (2003)

²C17:0 iso / (C15:0 iso + C17:0 iso).

³C17:0 anteiso / (C15:0 anteiso + C17:0 anteiso).

Se observó que la adición de aceite de lino a la ración redujo ($P < 0,05$) el valor del índice de elongación de C17:0 iso en el experimento 1 y tendió a reducir ($P = 0,06$) el de C17:0 anteiso en el experimento 2. Las relaciones entre dichos pares de ácidos grasos fue estrictamente lineal en ambos experimentos. No

hubo diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los valores de las intersecciones y las pendientes de las ecuaciones obtenidas en cada experimento, por lo que se obtuvieron ecuaciones con el conjunto de los datos (**Figura 5.3**).

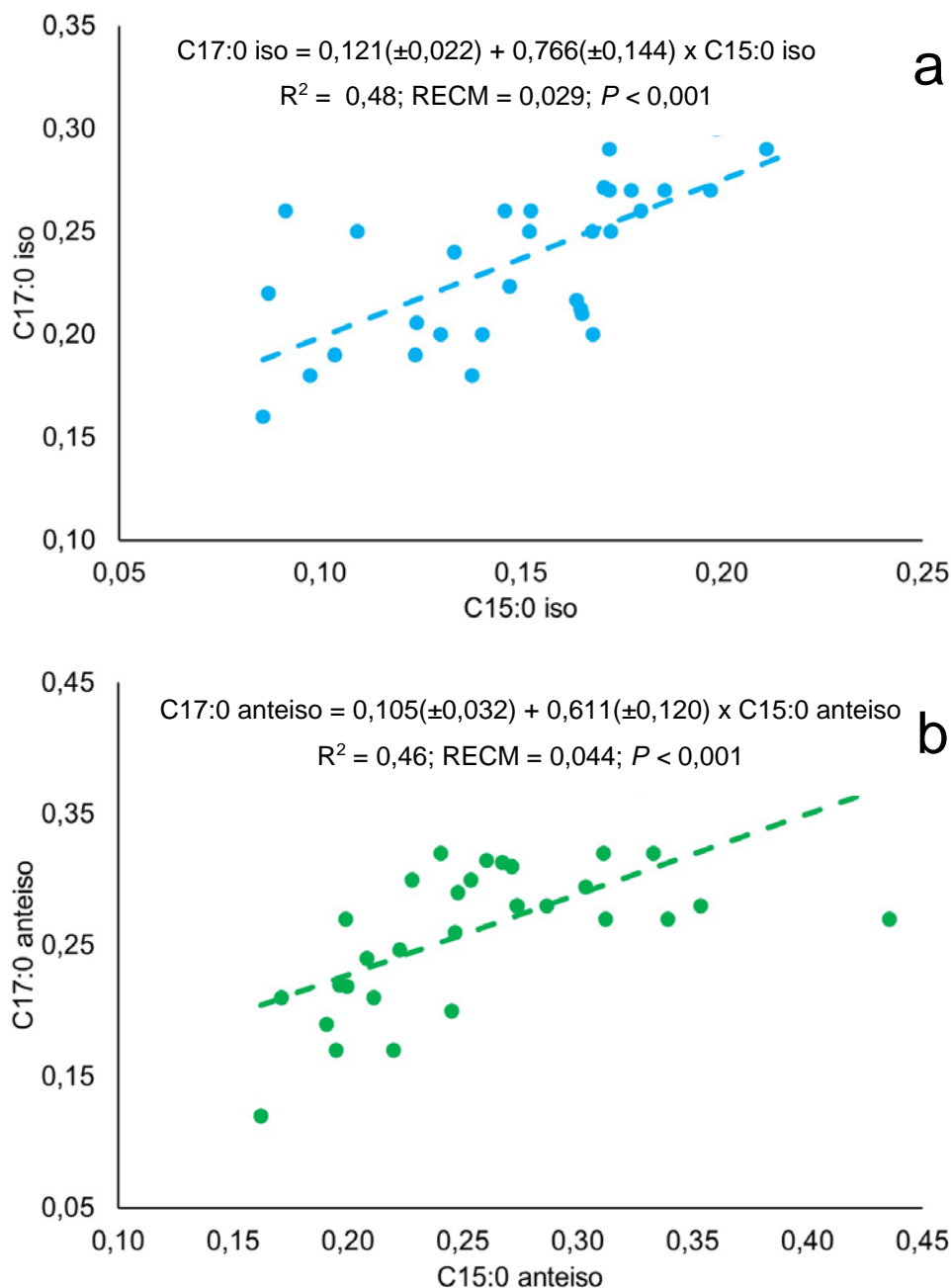


Figura 5.3. Relación entre los ácidos grasos C15:0 iso y C17:0 iso (**a**) y C15:0 anteiso y C17:0 anteiso (**b**) en la grasa láctea de las cabras de ambos experimentos. Valores en g por 100 de ésteres metílicos de ácidos grasos. RECM: raíz cuadrada del error cuadrático medio.

Ácidos grasos monoinsaturados

Los contenidos de los ácidos grasos de 18 átomos de carbono sumaron en torno a un 90% del contenido total de ácidos grasos monoinsaturados en la grasa láctea de los experimentos 1 y 2. El aceite de lino aumentó ($P < 0,05$) el contenido total de isómeros *trans* un 58 y 136% en los experimentos 1 y 2, respectivamente, en comparación con los correspondientes controles (**Tabla 5.2**). El ácido oleico fue claramente mayoritario en este grupo (66% del contenido total de monoinsaturados) (**Tabla 5.6**), pero su contenido no cambió ($P > 0,05$) por la adición de aceite a la ración.

Tabla 5.6. Contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de ácidos grasos C18:1 en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). EEM: error estándar de la media.

	Experimento 1				Experimento 2			
	Almidón Control	Almidón Aceite	EEM	<i>P</i>	Fibra Control	Fibra Aceite	EEM	<i>P</i>
<i>cis</i> -9	15,88	16,10	0,513	0,80	15,45	15,25	0,496	0,78
<i>cis</i> -11	0,62	0,70	0,028	0,07	0,62	0,62	0,026	0,82
<i>cis</i> -12	0,26	0,57	0,045	<0,001	0,24	0,51	0,043	<0,001
<i>cis</i> -13	0,01	0,01	0,001	<0,05	0,01	0,01	0,001	0,08
<i>cis</i> -14	0,03	0,05	0,003	<0,001	0,02	0,05	0,004	<0,001
<i>cis</i> -15	0,03	0,15	0,016	<0,001	0,02	0,11	0,011	<0,001
<i>cis</i> -16	0,02	0,04	0,002	<0,01	0,02	0,04	0,003	<0,05
<i>trans</i> -4	0,02	0,02	0,001	<0,05	0,01	0,02	0,001	<0,01
<i>trans</i> -5	0,01	0,02	0,001	0,26	0,01	0,02	0,001	0,12
<i>trans</i> -6/ <i>trans</i> -7	0,08	0,06	0,004	<0,01	0,07	0,09	0,004	<0,01
<i>trans</i> -8	0,13	0,18	0,010	<0,05	0,08	0,15	0,012	<0,001
<i>trans</i> -9	0,25	0,32	0,014	<0,01	0,20	0,33	0,020	<0,01
<i>trans</i> -10	0,58	0,55	0,090	0,89	0,32	0,46	0,035	<0,05
<i>trans</i> -11	1,86	3,25	0,223	<0,001	1,15	3,26	0,299	<0,001
<i>trans</i> -12	0,38	0,63	0,036	<0,001	0,29	0,64	0,052	<0,001
<i>trans</i> -13/ <i>trans</i> -14	0,17	0,43	0,038	<0,001	0,16	0,49	0,055	<0,01
<i>trans</i> -16	0,13	0,26	0,021	<0,01	0,12	0,22	0,017	<0,001

Los contenidos de C18:1 *cis*-12, C18:1 *cis*-14, C18:1 *cis*-15 y C18:1 *cis*-16 de aumentaron ($P < 0,05$) y el de C18:1 *cis*-13 disminuyó ($P < 0,05$) en la grasa láctea de los tratamientos con aceite de ambos experimentos. El ácido vaccénico fue el C18:1 *trans* mayoritario (en torno a un 50% del contenido total de C18:1 *trans*), seguido de lejos por C18:1 *trans*-10 (en promedio, alrededor de un 10% del contenido total de C18:1 *trans*) en ambos experimentos (**Tabla 5.6**). En el experimento 1, los contenidos de los C18:1 *trans* mostraron respuestas positivas ($P < 0,05$) a la adición de aceite a la ración, excepto los de C18:1 *trans*-5 y C18:1 *trans*-10, que no se afectaron ($P > 0,05$), y el de C18:1 *trans*-6/7 que disminuyó ($P < 0,05$). Todos los C18:1 *trans*, excepto C18:1 *trans*-5 ($P > 0,05$), mostraron respuestas positivas ($P < 0,05$) a la adición de aceite a la ración en el experimento 2, observándose que el contenido de C18:1 *trans*-10 se elevó hasta un valor próximo al observado en los tratamientos del experimento 1.

Respecto a otros monoinsaturados (**Tabla 5.7**), la inclusión de aceite en la ración redujo ($P < 0,05$) el contenido de C12:1 *cis*-9 en el experimento 2, y el de C14:1 *cis*-9 y C16:1 *cis*-9 en ambos experimentos. Se observó que el contenido de C17:1 *cis*-9 tendió a disminuir ($P = 0,07$) en el experimento 1 y bajó de manera clara ($P < 0,05$) en el experimento 2. Además de C16:1 *cis*-9 que fue con diferencia el C16:1 más abundante, se identificaron numerosos C16:1 *cis* y *trans*, que sumaron un 0,96 y 0,37%, respectivamente, de los ácidos grasos totales. C16:1 *cis*-7 fue el más abundante entre los C16:1 *cis* y C16:1 *trans*-9 lo fue entre los C16:1 *trans*. En conjunto, estos ácidos grasos, cuando mostraron cambios significativos, fueron en el mismo sentido en ambos experimentos.

El valor de los índices de Δ -9 desaturación de C18:1 *cis*-12, C18:1 *trans*-12, y C18:1 *trans*-11 fue menor ($P < 0,05$) o tendió a ser menor ($P < 0,10$) y el de C18:1 *trans*-7 tendió a aumentar ($P < 0,10$) en los tratamientos con aceite de ambos experimentos (**Tabla 5.4**). El aceite redujo ($P < 0,05$) el valor del índice de Δ -9 desaturación de C18:1 *cis*-15 en el experimento 1.

Tabla 5.7. Contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de ácidos grasos monoinsaturados distintos de C18:1 en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). EEM: error estándar de la media.

	Experimento 1				Experimento 2			
	Almidón Control	Almidón Aceite	EEM	<i>P</i>	Fibra Control	Fibra Aceite	EEM	<i>P</i>
C10:1 <i>cis</i>	0,24	0,21	0,008	<0,05	0,27	0,24	0,012	0,08
C12:1 <i>cis</i> -9	0,03	0,03	0,002	0,49	0,04	0,03	0,003	<0,01
C12:1 <i>cis</i> -11	0,04	0,05	0,004	0,56	0,08	0,05	0,005	<0,01
C14:1 <i>cis</i> -9	0,15	0,12	0,009	<0,01	0,15	0,12	0,009	<0,01
C15:1 <i>trans</i>	0,07	0,06	0,003	0,09	0,08	0,07	0,004	0,11
Otros C15:1	0,01	0,01	0,000	0,38	0,001	0,01	0,001	0,68
C16:1 <i>cis</i> -7	0,20	0,20	0,006	0,58	0,21	0,17	0,010	<0,05
C16:1 <i>cis</i> -8	0,01	0,01	0,001	<0,001	0,01	0,01	0,001	<0,001
C16:1 <i>cis</i> -9	0,70	0,50	0,039	<0,001	0,71	0,57	0,036	<0,05
C16:1 <i>cis</i> -12	0,01	0,01	0,001	<0,01	0,01	0,01	0,001	0,32
C16:1 <i>cis</i> -13	0,12	0,09	0,008	<0,001	0,15	0,10	0,010	<0,001
C16:1 <i>trans</i> -3	0,01	0,01	0,000	0,63	0,01	0,01	0,000	0,44
C16:1 <i>trans</i> -4	0,01	0,01	0,000	0,31	0,01	0,01	0,000	0,72
C16:1 <i>trans</i> -5	0,02	0,02	0,001	0,08	0,02	0,02	0,001	0,10
C16:1 <i>trans</i> -6/ <i>trans</i> -7	0,02	0,02	0,001	0,26	0,02	0,02	0,001	0,65
C16:1 <i>trans</i> -8	0,04	0,04	0,002	0,90	0,04	0,04	0,001	0,36
C16:1 <i>trans</i> -9	0,18	0,34	0,025	<0,001	0,11	0,28	0,028	<0,001
C16:1 <i>trans</i> -10	0,02	0,04	0,004	<0,001	0,01	0,03	0,003	<0,001
C16:1 <i>trans</i> -13	0,01	0,01	0,001	<0,001	0,01	0,01	0,001	<0,01
C16:1 <i>trans</i> -14	0,01	0,02	0,001	<0,01	0,01	0,02	0,001	0,19
C17:1 <i>cis</i> -9	0,20	0,18	0,009	0,07	0,21	0,16	0,010	<0,01
Otros C17:1	0,02	0,02	0,001	0,85	0,02	0,02	0,001	0,39
C19:1 <i>cis</i> -10	0,15	0,16	0,010	0,37	0,19	0,18	0,008	0,75
C19:1 <i>cis</i>	0,01	0,01	0,001	<0,001	0,01	0,01	0,001	<0,01
C20:1 <i>cis</i> -9	0,01	0,02	0,001	<0,01	0,01	0,02	0,001	<0,05
C20:1 <i>cis</i> -11	0,03	0,03	0,003	0,24	0,02	0,02	0,002	<0,05
C24:1 <i>cis</i> -15	0,02	0,02	0,002	0,91	0,02	0,02	0,001	0,33

Ácidos grasos poliinsaturados

En ambos experimentos, la adición de aceite de lino a la ración elevó ($P < 0,05$) los contenidos de los C18:2 no conjugados y conjugados en la grasa láctea (**Tabla 5.2**). En promedio, los C18:2 no conjugados se encontraron en cantidad superior a un 70% de los C18:2 totales. Los contenidos de todos los C18:2 no conjugados, excepto el de ácido linoleico, respondieron de forma positiva ($P < 0,05$) a la adición de aceite a la ración en los experimentos 1 y 2 (**Tabla 5.8**). El contenido del ácido linoleico tendió a bajar ($P = 0,06$) en el tratamiento con aceite del experimento 2. Entre los C18:2 conjugados, únicamente el contenido de ácido ruménico aumentó ($P < 0,05$) en los tratamientos con aceite de ambos experimentos (49% en el experimento 1 y 136% en el experimento 2). Se observó que la relación de los contenidos de los ácidos ruménico y vaccénico en cada uno de los experimentos fue estrictamente lineal en ambos experimentos (**Figura 5.4**). Los contenidos de C18:2 *trans*-7,*cis*-9 y C18:2 *trans*-11,*trans*-13 mostraron una respuesta positiva ($P < 0,05$) al aceite de lino solo en el experimento 2.

El valor de los índices de Δ -9 desaturación del ácido vaccénico y C18:2 *trans*-11,*cis*-15 fue menor ($P < 0,05$) en los tratamientos con aceite de ambos experimentos (**Tabla 5.4**). Por otra parte, se observó que el valor de la relación entre los contenidos de C18:1 *trans*-10 y C18:2 *trans*-10,*cis*-12 no se afectó ($P > 0,05$) en ninguno de los experimentos, pero el valor de la relación entre los contenidos de C18:1 *trans*-10 y C18:2 *trans*-10,*cis*-15 fue menor ($P < 0,05$) en los tratamientos con aceite de ambos experimentos (**Tabla 5.8**).

En la grasa láctea de ambos experimentos, los ácidos grasos con 18 átomos de carbono fueron mayoritarios en el grupo de ácidos grasos con tres o más dobles enlaces (**Tabla 5.9**). Los contenidos de ácido α -linolénico, C18:3 *cis*-9,*trans*-11,*cis*-15 y ácido eicosapentaenoico (C20:5 n-3) en la grasa láctea aumentaron ($P < 0,05$) en los tratamientos con aceite de los dos experimentos, destacando

el hecho de que los contenidos de ácido α -linolénico prácticamente duplicaron los de los respectivos controles.

Tabla 5.8. Contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de ácidos grasos C18:2 en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). EEM: error estándar de la media.

	Experimento 1				Experimento 2			
	Almidón Control	Almidón Aceite	EEM	P	Fibra Control	Fibra Aceite	EEM	P
Otros <i>trans,trans</i>	0,05	0,06	0,003	<0,01	0,04	0,07	0,004	<0,001
<i>cis-9,trans-13/trans-8,cis-12</i>	0,25	0,44	0,027	<0,001	0,23	0,46	0,034	<0,001
<i>trans-8,cis-13</i>	0,06	0,11	0,008	<0,001	0,06	0,11	0,008	<0,01
<i>cis-9,trans-12</i>	0,03	0,04	0,002	<0,01	0,03	0,05	0,003	<0,01
<i>trans-9,cis-12</i>	0,02	0,03	0,001	<0,01	0,02	0,03	0,002	<0,01
<i>trans-10,cis-15</i>	0,01	0,08	0,012	<0,01	0,01	0,08	0,012	<0,05
<i>trans-11,cis-15</i>	0,09	0,55	0,065	<0,001	0,05	0,67	0,084	<0,001
<i>cis-9,cis-12</i>	2,11	2,07	0,095	0,75	2,48	2,17	0,080	0,06
<i>cis-9,cis-15</i>	0,01	0,04	0,004	<0,001	0,01	0,04	0,005	<0,001
<i>cis-12,cis-15</i>	0,01	0,04	0,005	<0,001	0,01	0,04	0,005	<0,001
<i>trans-7,cis-9</i>	0,05	0,05	0,002	0,17	0,04	0,06	0,003	<0,001
<i>cis-9,trans-11</i>	0,92	1,36	0,076	<0,001	0,63	1,48	0,130	<0,001
<i>trans-9,cis-11</i>	0,01	0,01	0,001	0,51	0,01	0,01	0,001	0,62
<i>trans-10,cis-12</i>	0,01	0,01	0,001	0,92	0,01	0,01	0,001	0,35
<i>trans-11,cis-13</i>	0,01	0,01	0,000	0,42	0,01	0,01	0,001	0,31
<i>trans-11,trans-13</i>	0,01	0,02	0,001	0,15	0,01	0,02	0,001	<0,001
Relaciones								
<i>trans-10/trans-10,cis-12</i>	177	178	22,6	0,97	142	207	28,1	0,27
<i>trans-10/trans-10,cis-15</i>	78	8	13,5	<0,001	29	7	3,0	<0,05

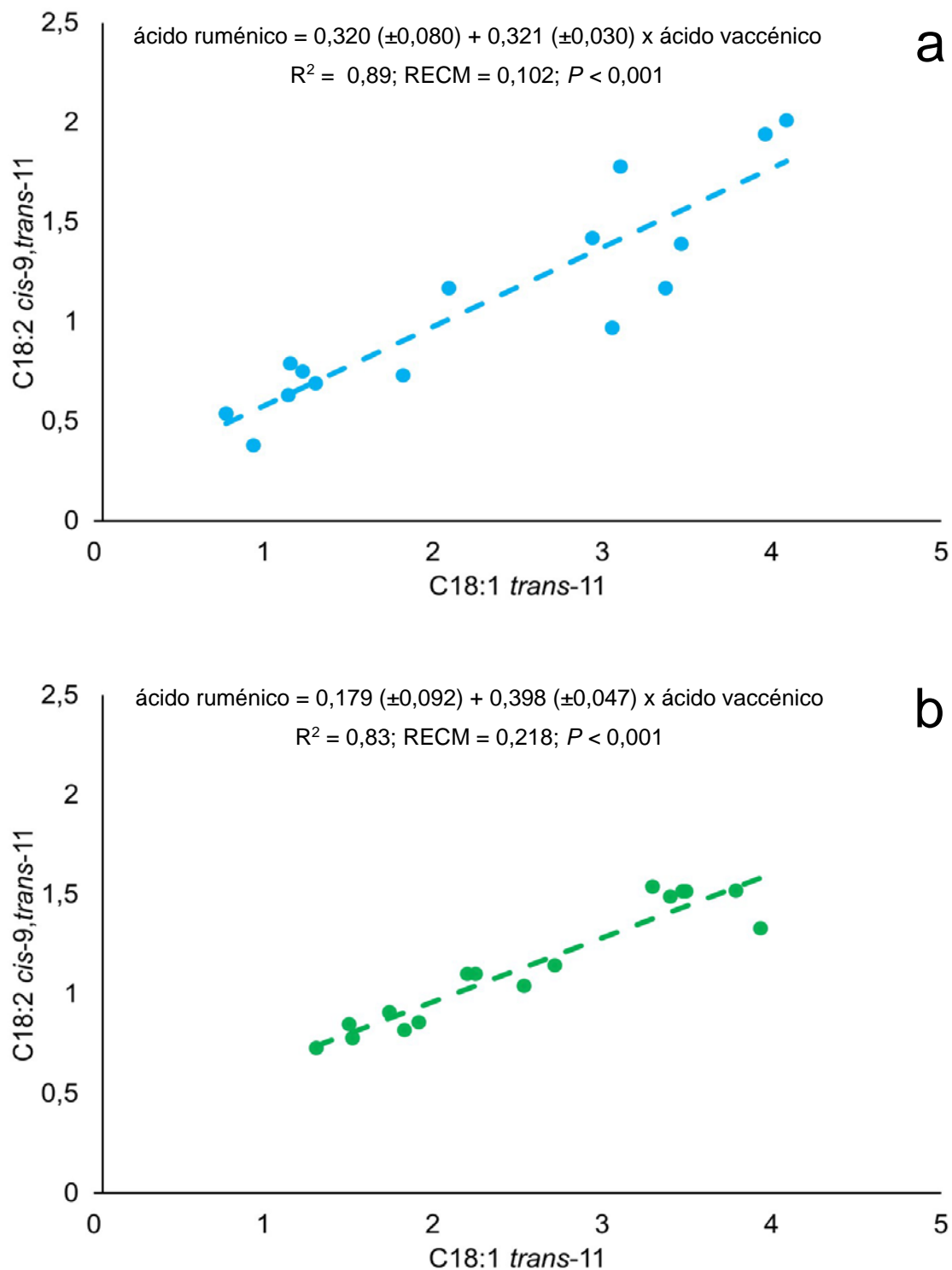


Figura 5.4. Relación entre los ácidos grasos vaccénico y ruménico en la grasa láctea de las cabras del experimento 1 (**a**) y el experimento 2 (**b**). Valores en g por 100 de ésteres metílicos de ácidos grasos. RECM: raíz cuadrada del error cuadrático medio.

Tabla 5.9. Contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de ácidos grasos poliinsaturados distintos de C18:2 en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). EEM: error estándar de la media.

	Experimento 1				Experimento 2			
	Almidón Control	Almidón Aceite	EEM	P	Fibra Control	Fibra Aceite	EEM	P
C16:2	0,01	0,03	0,003	<0,01	0,01	0,03	0,004	<0,001
C18:3								
<i>cis</i> -6, <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12	0,03	0,04	0,003	<0,01	0,03	0,05	0,003	<0,01
<i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15	0,35	0,66	0,046	<0,001	0,48	0,97	0,080	<0,001
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -12, <i>cis</i> -15	0,01	0,02	0,001	<0,01	0,01	0,02	0,001	0,09
<i>trans</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15	0,02	0,11	0,012	<0,001	0,02	0,15	0,018	<0,001
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11, <i>trans</i> -15	0,01	0,01	0,001	0,81	0,01	0,02	0,001	<0,01
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15	0,04	0,06	0,004	<0,01	0,04	0,08	0,008	<0,05
Otros	0,01	0,09	0,011	<0,001	0,02	0,15	0,018	<0,001
C20:3 n-6	0,02	0,01	0,001	<0,01	0,02	0,01	0,001	<0,001
C20:4 n-6	0,19	0,15	0,007	<0,01	0,23	0,17	0,013	<0,01
C20:5 n-3	0,03	0,04	0,002	<0,01	0,05	0,06	0,003	<0,05
C22:4 n-6	0,04	0,03	0,002	0,07	0,04	0,02	0,003	<0,01
C22:5 n-3	0,09	0,09	0,003	0,67	0,09	0,11	0,004	<0,05
C22:6 n-3	0,02	0,02	0,001	0,79	0,02	0,02	0,001	<0,01
No identificados	0,03	0,02	0,002	<0,001	0,03	0,03	0,001	0,34

Transferencia aparente de ácidos grasos C18 a la leche

Como era de esperar, la inclusión de aceite de lino en la ración aumentó ($P < 0,05$) el consumo de ácidos grasos de 18 átomos de carbono (**Tabla 5.10**). En el experimento 1, el aceite incrementó ($P < 0,05$) la producción diaria de los ácidos α -linolénico, vaccénico y ruménico en la leche. En el experimento 2, el aceite elevó ($P < 0,05$) la producción diaria de los ácidos esteárico, α -linolénico, vaccénico, C18:1 *trans*-10 y ruménico, así como de los ácidos grasos de 18 átomos de carbono insaturados y totales.

Tabla 5.10. Transferencia aparente de ácidos grasos C18 a la leche, y relaciones entre la producción de C18 *trans* y el consumo de C18 insaturados en cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). EEM: error estándar de la media.

	Experimento 1				Experimento 2			
	Almidón Control	Almidón Aceite	EEM	P	Fibra Control	Fibra Aceite	EEM	P
Consumo, g/d								
Esteárico	0,74	1,78	0,137	<0,001	0,91	2,03	0,146	<0,001
Oleico	5,18	10,68	0,727	<0,001	5,07	11,07	0,781	<0,001
Linoleico	13,53	17,55	0,585	<0,001	13,10	17,84	0,643	<0,001
α -linolénico	3,15	16,65	1,761	<0,001	3,57	17,89	1,857	<0,001
C18 insaturados	21,86	44,89	3,047	<0,001	21,74	46,79	3,269	<0,001
C18 total	22,60	46,67	3,184	<0,001	22,66	48,83	3,415	<0,001
Producción, g/d								
Esteárico	3,67	3,77	0,311	0,80	2,93	3,86	0,262	<0,01
Oleico	8,96	7,89	0,782	0,14	7,41	8,80	0,626	0,07
Linoleico	1,20	1,07	0,147	0,12	1,18	1,30	0,115	0,49
α -linolénico	0,20	0,34	0,041	<0,05	0,23	0,59	0,070	<0,05
C18 insaturados	13,83	14,49	1,344	0,36	10,98	16,87	1,281	<0,01
C18 total	17,50	18,26	1,622	0,46	13,91	20,73	1,503	<0,01
C18:1 <i>trans</i> -10	0,32	0,33	0,076	0,94	0,14	0,28	0,032	<0,05
Vaccénico (AV)	1,04	1,63	0,179	<0,05	0,54	1,93	0,217	<0,01
Ruménico (AR)	0,51	0,67	0,059	<0,05	0,30	0,87	0,098	<0,01
Transferencia, g/100 g								
Esteárico	497,88	213,26	51,543	<0,001	323,02	189,52	26,945	<0,01
Oleico	173,45	74,12	17,634	<0,001	147,32	79,25	12,828	<0,01
Linoleico	8,80	6,06	0,934	<0,001	9,03	7,23	0,725	0,15
α -linolénico	6,34	2,03	0,754	<0,001	6,38	3,26	0,615	<0,05
C18 insaturados	63,15	32,22	5,880	<0,001	50,98	35,83	3,796	<0,05
C18 total	77,42	39,12	7,204	<0,001	61,95	42,23	4,601	<0,01
Producción/consumo								
<i>trans</i> -10/insaturados	1,44	0,71	0,234	0,11	0,67	0,60	0,059	0,57
AV/insaturados	4,73	3,58	0,435	<0,05	2,47	4,08	0,342	<0,05
AR/insaturados	2,33	1,47	0,193	<0,01	1,40	1,84	0,169	0,08

La transferencia aparente de los ácidos grasos de 18 átomos de carbono desde la ración a la leche se redujo ($P < 0,05$) en los tratamientos con aceite de ambos experimentos, excepto el ácido linoleico en el experimento 2 que no se vio afectado ($P > 0,05$). La producción diaria de C18:1 *trans*-10 en relación con el consumo de ácidos grasos insaturados no cambió ($P > 0,05$) por la presencia de aceite en las raciones de ambos experimentos, aunque mostró una apreciable reducción numérica (50%) en el experimento 1. Las producciones diarias de los ácidos vaccénico y ruménico en relación con el consumo de ácidos grasos insaturados disminuyeron ($P < 0,05$) en el tratamiento con aceite del experimento 1, y aumentaron ($P < 0,05$) y tendieron a aumentar ($P = 0,08$), respectivamente, en el tratamiento con aceite del experimento 2.

Correlaciones entre los contenidos de ácidos grasos de origen ruminal

Individualmente, los ácidos grasos iso con mayor número de correlaciones negativas significativas ($P < 0,05$) con los intermediarios de la biohidrogenación ruminal fueron C13:0 iso y C18:0 iso (**Tabla 5.11**). Todos los ácidos grasos iso, excepto C18:0 iso, se correlacionaron negativamente ($P < 0,05$) con C18:1 *trans*-10. C13:0 anteiso se correlacionó positivamente ($P < 0,05$) con C18:2 *trans*-10,*cis*-12, y C17:0 anteiso se correlacionó negativamente ($P < 0,05$) con C18:2 *trans*-10,*cis*-15. Los ácidos grasos iso totales mostraron una correlación negativa ($P < 0,05$) con C18:1 *trans*-10 y C18:2 *trans*-10,*cis*-15, que solamente tendió a ser significativa ($P < 0,10$) con el ácido vaccénico y C18:2 *trans*-10,*cis*-12. Los ácidos grasos anteiso totales, C15:0 y la suma de C17:0 y C17:1 *cis*-9, no mostraron correlaciones significativas con ninguno de los ácidos grasos intermediarios de la biohidrogenación ruminal.

Parámetros calculados de la fermentación ruminal

Los valores de las proporciones molares de acetato, propionato y butirato y la producción de metano calculados a partir de los contenidos de ácidos grasos específicos de la leche se muestran en la **Tabla 5.12**.

Tabla 5.11. Correlaciones de Pearson entre los contenidos de ácidos grasos impares y ramificados y los contenidos de ácidos grasos intermediarios de las principales vías de biohidrogenación ruminal en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón o fibra neutro detergente, sin aceite o con aceite de lino. EEM: error estándar de la media.

	C18:1			C18:2			
	<i>trans</i> -11	<i>cis</i> -15	<i>trans</i> -10	<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	<i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15	<i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12	<i>trans</i> -10, <i>cis</i> -15
C15:0	0,15	0,18	-0,10	0,16	0,20	-0,17	0,19
C17:0	-0,07	0,01	-0,23	-0,08	0,03	0,22	0,06
C17:1 <i>cis</i> -9	-0,38*	-0,37*	-0,10	-0,22	-0,38*	0,34†	-0,35*
C13:0 iso	-0,43*	-0,17	-0,60*	-0,36*	-0,35†	-0,38*	-0,42*
C13:0 anteiso	0,20	0,25	0,04	0,20	0,25	0,44*	0,20
C14:0 iso	-0,11	-0,10	-0,37*	-0,08	0,09	-0,34†	-0,01
C15:0 iso	-0,17	0,02	-0,56*	-0,08	-0,17	-0,41*	-0,41*
C15:0 anteiso	0,00	0,03	-0,23	0,01	-0,01	-0,28	-0,12
C16:0 iso	-0,17	-0,06	-0,43*	-0,16	-0,14	-0,34	-0,27
C17:0 iso	-0,40*	-0,31	-0,52*	-0,22	-0,34	-0,20	-0,48*
C17:0 anteiso	-0,13	-0,02	-0,20	-0,19	-0,24	-0,18	-0,35*
C18:0 iso	-0,47*	-0,52*	0,05	-0,43*	-0,50*	0,31	-0,36*
C17:0+C17:1 <i>cis</i> -9	-0,22	-0,16	-0,21	-0,15	-0,15	0,31	-0,11
Iso total	-0,31†	-0,18	-0,55*	-0,21	-0,24	-0,34†	-0,41*
Anteiso total	-0,07	0,01	-0,24	-0,09	-0,13	-0,25	-0,25

* $P < 0,05$. † $0,05 \leq P < 0,10$.

En los tratamientos con aceite de lino de ambos experimentos, la proporción molar de acetato tendió a reducirse ($P = 0,08$), mientras que la proporción molar de propionato aumentó ($P < 0,05$) en el experimento 1. El aceite en la ración ocasionó una reducción ($P < 0,05$) de la producción diaria metano. Es destacable que la producción diaria de metano calculada a partir de la fibra neutro detergente consumida no fue diferente entre tratamientos dentro del mismo experimento, pero fue casi un 60% superior en el experimento 2 respecto al experimento 1.

Tabla 5.12. Producción calculada de ácidos grasos volátiles (AGV) y metano a partir de los contenidos de ácidos grasos específicos en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Experimento 1) o fibra neutro detergente (Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). EEM: error estándar de la media.

	Experimento 1				Experimento 2			
	Almidón Control	Almidón Aceite	EEM	P	Fibra Control	Fibra Aceite	EEM	P
AGV, mmol/mol (Bhagwatt et al., 2012) ¹								
Acetato	651,7	644,8	1,84	0,08	670,0	668,3	0,74	0,08
Propionato	197,1	211,2	3,01	<0,05	190,1	188,3	1,18	0,43
Butirato	146,0	141,8	1,35	0,13	138,1	138,3	1,45	0,89
Metano, g/d								
Van Lingen et al. (2014) ¹	27,8	25,1	0,67	<0,01	29,5	26,7	0,62	<0,05
Dijkstra et al. (2011) ¹	24,7	19,4	0,94	<0,001	28,6	21,3	1,18	<0,001
Patra y Lalhriatpuii (2016) ²	15,8	15,7	0,17	0,77	20,2	20,3	0,21	0,85

¹Ecuaciones basadas en los contenidos de ácidos grasos específicos de la grasa láctea. ²Ecuación basada en el contenido de fibra neutro detergente de la ración.

Análisis de componentes principales

Los dos primeros componentes principales explicaron el 42,9% de la varianza total de los contenidos de ácidos grasos en la grasa láctea (**Figura 5.5**). Las observaciones se distribuyeron en cuatro grupos respecto a los componentes principales. Las coordenadas de los centroides indicaron que el componente principal 1 (eje X, 30,0% de la varianza total) separó las observaciones por la inclusión de aceite en la ración; mientras que el componente principal 2 (eje Y, 12,9% de la varianza total) separó las observaciones por el tipo de concentrado de la ración. Los centroides de los tratamientos control y con aceite del experimento 1 se situaron a distancias similares de los ejes factoriales X e Y, aunque los signos fueron opuestos en el eje X. La posición del centroide del tratamiento con aceite del experimento 2 con respecto al eje factorial Y fue mucho más próxima a cero que la del tratamiento control, mientras que las distancias respecto al eje factorial X fueron similares, pero de signo contrario.

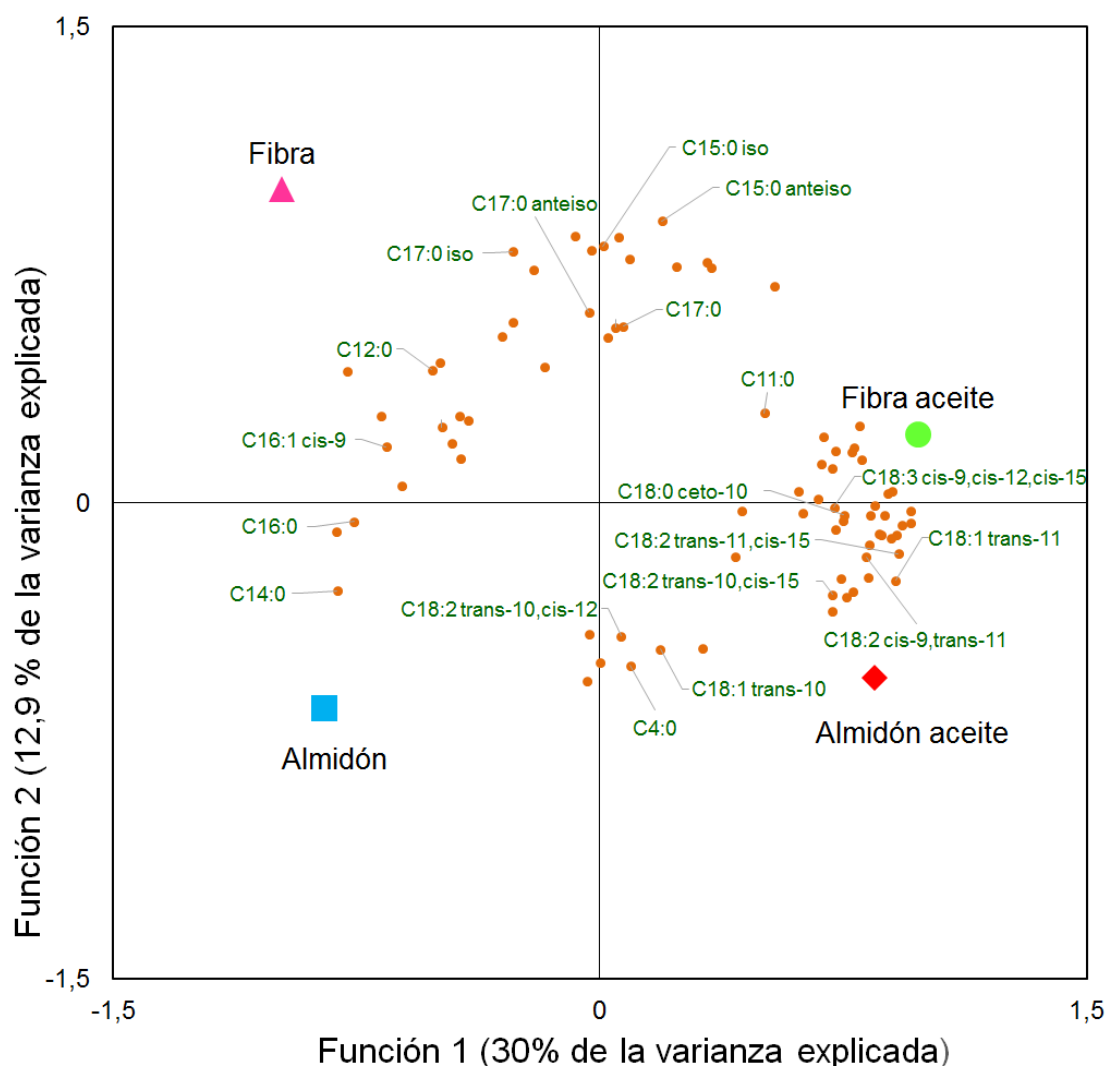


Figura 5.5. Gráfico de los dos primeros componentes principales. Los centroides corresponden a los grupos de observaciones de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón, sin aceite (■) y con aceite de lino (◆), o fibra neutro detergente, sin aceite (▲) y con aceite de lino (●). Por motivos de claridad, solamente se muestran las posiciones de los ácidos grasos con correlaciones factoriales mayores de 0,40 o menores de -0,40, con indicación expresa de los más representativos.

El análisis de la varianza de las puntuaciones factoriales de las observaciones, utilizando el tratamiento como efecto, sirvió para confirmar que el componente principal 1 separó ($P < 0,05$) a los controles de los tratamientos con aceite en ambos experimentos, sin que hubiera diferencia ($P > 0,05$) entre ellos (**Figura 5.6**). El componente principal 2 separó ambos experimentos, pero la separación fue más clara ($P < 0,05$) entre los tratamientos del experimento 1 y el control del

experimento 2, ya que el tratamiento con aceite de este experimento solamente tendió a ser diferente del tratamiento con aceite del experimento 1 ($P = 0,06$) y su propio control ($P = 0,07$).

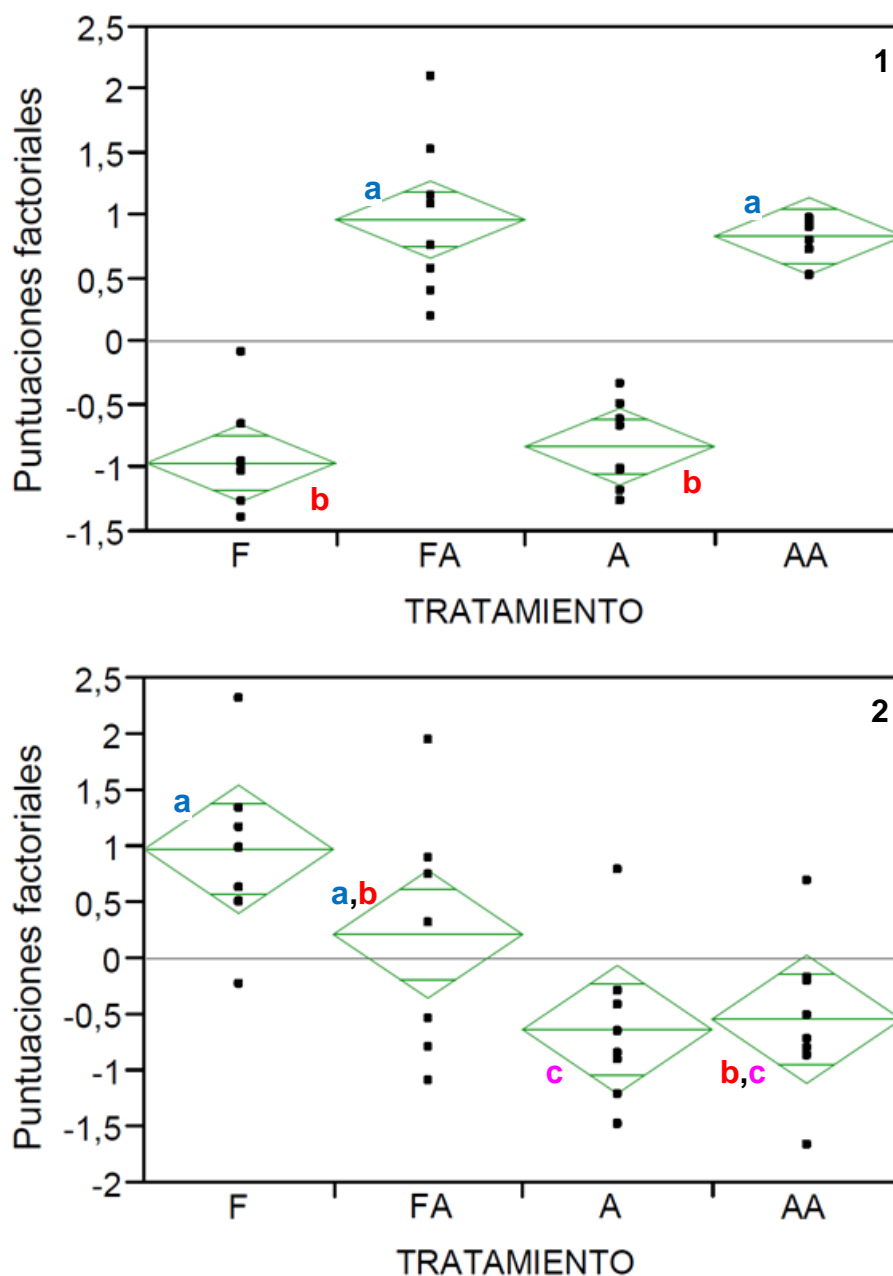


Figura 5.6. Representación gráfica del análisis de la varianza de las puntuaciones factoriales de las observaciones en el componente principal 1 (1) y el componente principal 2 (2). Las medias con letras distintas (a, b, c) son significativamente diferentes ($P < 0,05$). Observaciones de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón, sin aceite (A) y con aceite de lino (AA), o fibra neutro detergente, sin aceite (F) y con aceite de lino (FA).

A partir de las correlaciones mayores de 0,40 o menores de -0,40 con los componentes principales (datos no mostrados), se pudieron distinguir cuatro grandes conjuntos de ácidos grasos. Los ácidos grasos saturados pares de 12 a 16 átomos de carbono y sus productos de Δ -9 desaturación, así como C17:1 *cis*-9, C20:3 *n*-6 y C20:4 *n*-6 formaron un grupo que se correlacionó negativamente con el componente principal 1. Otro grupo correlacionado positivamente con el componente principal 1 incluyó numerosos ácidos grasos, entre los que cabe destacar los ácidos grasos impares de 5 a 11 átomos de carbono, el ácido cetosteárico, C16:2, numerosos C18:1 (excepto el ácido oleico y C18:1 *trans*-10), todos los C18:2 no conjugados (excepto el ácido linoleico), el ácido ruménico, C18:2 *trans*-7,*cis*-9 y C18:2 *trans*-11,*trans*-13, el ácido α -linolénico y C18:3 *cis*-9,*trans*-11,*cis*-15. Los ácidos grasos saturados impares de 13 a 23 átomos de carbono, los ácidos grasos iso de 13 a 17 átomos de carbono, y C15:0 anteiso y C17:0 anteiso se correlacionaron positivamente con el componente principal 2, en tanto que el ácido butírico, C18:1 *trans*-10, C18:2 *trans*-9,*trans*-11 y C18:2 *trans*-10,*cis*-12 se correlacionaron negativamente. Cabe señalar que 4-metiloctanoato y 4-metildodecanoato mostraron una correlación positiva con el componente principal 1, en tanto que 4-6-dimetiloctanoato y metildecanoato se correlacionaron negativamente con el componente principal 2, siendo el valor absoluto de la correlación mayor de 0,25 en todos los casos.

Análisis discriminante

Cuatro ácidos grasos ramificados (C13:0 iso, C14:0 iso, C17:0 anteiso y C18:0 iso) y la suma de C17:0 y C17:1 *cis*-9 fueron seleccionados como variables predictoras en el modelo discriminante (**Tabla 5.13**, **Figura 5.7**). La prueba de Wilks indicó que el modelo completo fue significativo ($P < 0,001$) y explicó el 98,4% de la varianza compartida entre las variables. El cuadrado de la correlación canónica indicó que únicamente las dos primeras funciones fueron relevantes en el presente estudio, sumando el 96,1% de la varianza total. Las distancias de Mahalanobis al cuadrado entre los grupos fueron muy

significativas ($P < 0,001$) en todos los casos. Los coeficientes canónicos estandarizados mostraron que los ácidos grasos con mayor poder discriminante en la función 1 fueron C14:0 iso y C17:0 anteiso en sentido positivo y negativo, respectivamente. La matriz de estructura indicó que C14:0 iso tuvo la mayor correlación con esta función. De acuerdo con los valores de los centroides, la función 1 separó los tratamientos con alto contenido en almidón (experimento 1) de los tratamientos con alto contenido en fibra neutro detergente (experimento 2). Los ácidos grasos con mayor poder discriminante en la función 2 fueron C18:0 iso, C13:0 iso y C17 total, siendo el primero el que tuvo la mayor correlación con esta función según la matriz de estructura. Los valores de los centroides indicaron que la función 2 diferenció los tratamientos sin aceite de los que incluyeron aceite.

Tabla 5.13. Resultados del análisis canónico discriminante (1, 2 y 3 son las funciones canónicas) a partir de los contenidos de ácidos grasos específicos en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón) o fibra neutro detergente (Fibra), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite).

	Coeficientes estandarizados			Matriz de estructura		
	1	2	3	1	2	3
C13:0 iso	0,461	1,066	0,025	0,089	0,196	0,511
C14:0 iso	1,594	-0,167	-0,135	0,588	-0,197	0,364
C17:0 anteiso	-1,459	-0,339	0,548	-0,012	0,102	0,482
C18:0 iso	0,832	1,791	-0,394	0,077	0,523	0,472
C17:0 + C17:1 <i>cis</i> -9	-0,594	-1,370	1,127	0,102	0,105	0,850
Cuadrado de la correlación canónica	0,924	0,671	0,367			
Autovalores (eigenvalues)	12,096	2,041	0,580			
% de la varianza explicada	82,19	13,87	3,94			
Centroides						
Almidón control	-2,638	1,655	-0,640			
Almidón aceite	-3,815	-1,401	0,516			
Fibra control	3,153	0,970	0,882			
Fibra aceite	3,299	-1,224	-0,758			

Las funciones discriminantes de Fisher asignaron incorrectamente una observación entre los tratamientos dentro de cada experimento en la matriz original, lo que equivale a un 93,8% de aciertos en la clasificación. En la validación cruzada, se asignaron incorrectamente cinco observaciones, dos de ellas entre tratamientos pertenecientes a experimentos distintos, resultando en un 87,5% de aciertos.

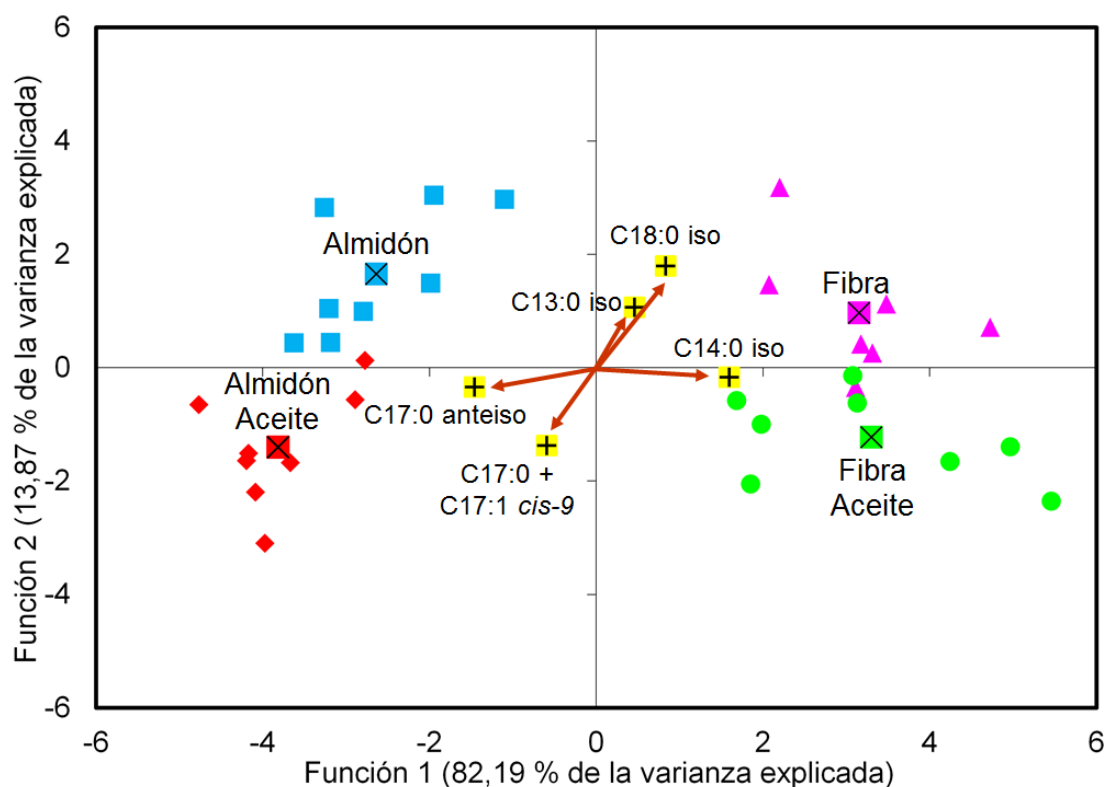


Figura 5.7. Gráfico de las dos primeras funciones discriminantes canónicas. Observaciones correspondientes a cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón, sin aceite (■) y con aceite de lino (◆), o fibra neutro detergente, sin aceite (▲) y con aceite de lino (●). Los centroides están marcados con x. Las flechas apuntan a las coordenadas representadas por los coeficientes estandarizados de los ácidos grasos en cada una de las funciones.

5.2.2. Discusión

5.2.2.1. Resultados productivos

Los experimentos 1 y 2 fueron diseñados para poner de manifiesto diferencias en los contenidos de ácidos grasos de la grasa láctea por efecto de los carbohidratos mayoritarios en los concentrados de las raciones y la inclusión de aceite de lino en las mismas. No obstante, se prestó especial atención a cualquier efecto adverso de las raciones sobre el comportamiento alimentario (Desnoyers *et al.*, 2008; Giger-Reverdin *et al.*, 2014). La ausencia de diferencias en el consumo de forraje y concentrado (**Tabla 5.1**) indicaría que la composición de las raciones no tuvo un efecto aparente sobre el comportamiento alimentario de los animales. Adicionalmente, Martínez Marín *et al.* (2015c), en un metaanálisis de la literatura, no observaron diferencias en el consumo de materia seca entre cabras alimentadas con raciones que incluyeron semillas o aceites vegetales y las que recibieron las raciones control. Por otra parte, en nuestros experimentos, el consumo de grasa extra fue de unos 0,5 g por kg de peso vivo, muy inferior a las cantidades –3,6 y 2,4 g/kg peso vivo– a partir de las que se observa una depresión del consumo de alimentos en cabras (Martínez Marín *et al.*, 2013d).

La composición de la leche de ambos experimentos (**Tabla 5.1, Figura 5.8**) estuvo dentro de los valores de leche de cabra recopilados de la literatura por Barlowska *et al.* (2011). A diferencia de lo observado por Ibáñez *et al.* (2015a, 2015b), la sustitución de almidón por fibra neutro detergente digestible en la ración no tuvo efecto el contenido graso de la leche. Por otro lado, la ausencia de diferencias en la producción de leche y la mayoría de los componentes de la misma por la inclusión de aceite en las raciones de ambos experimentos coincide con lo reportado en la literatura (Martínez Marín *et al.*, 2013d). Chilliard *et al.* (2003, 2014) señalaron que la adición de grasa extra a la ración de cabras lecheras no produce normalmente cambios apreciables en la producción de leche y el contenido de proteína, aunque puede ocasionar aumentos

significativos del contenido graso. Los resultados de Martínez Marín *et al.* (2015c) mostraron que el porcentaje de grasa láctea responde positivamente al enriquecimiento de la ración con grasa en forma de semillas y aceites vegetales, con pocos cambios en los restantes parámetros productivos. Dichos autores no pudieron incluir en su estudio las características de la ración basal como posible factor de interferencia. En este sentido, el aumento del contenido de grasa láctea observado únicamente en el experimento 2 podría sugerir una interacción de los carbohidratos de la ración con el aceite de lino. Otros autores han observado incrementos del porcentaje de la grasa láctea en cabras, sin cambios en los restantes parámetros productivos, al incluir tanto aceite de lino en una ración con una proporción fibra neutro detergente/almidón similar a la del experimento 1 (Li *et al.*, 2012) como semilla de lino en una ración con una proporción fibra neutro detergente/almidón similar a la del experimento 2 (Renna *et al.*, 2013). Por otra parte, trabajos previos con cabras han reportado la existencia de interacciones significativas entre la inclusión de grasa extra en la ración y el tipo de forraje utilizado (Bernard *et al.*, 2009c), pero no de aquella con la proporción forraje/concentrado (Mele *et al.*, 2008; Ollier *et al.*, 2009).

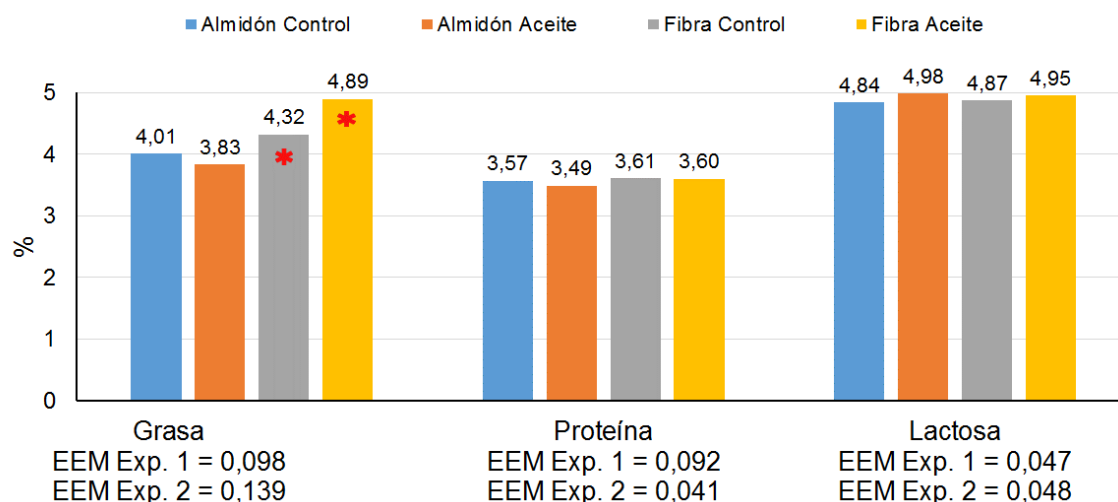


Figura 5.8. Composición de la leche de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). Dentro de un experimento (1 ó 2), el símbolo (*) indica diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los tratamientos. EEM: error estándar de la media.

La comparación de las necesidades nutritivas, calculadas según INRA (2007) a partir de los resultados productivos, con los aportes derivados de la concentración nutritiva de las raciones y los consumos de alimentos (**Tablas 4.4 y 5.1**) indicó que los animales tuvieron un balance positivo de energía y proteína. La ausencia de pérdida de peso durante el período experimental debió resultar en un suministro de ácidos grasos desde las reservas grasas corporales a la glándula mamaria nulo o selectivamente limitado a ácidos grasos esenciales de 18 átomos de carbono (Khiaosa-ard *et al.*, 2015).

En conclusión, la mayoría de los parámetros productivos no se vieron afectados por los tratamientos. El porcentaje de grasa de la leche solo respondió positivamente cuando el aceite de lino se incluyó en la ración con menor porcentaje de almidón.

5.2.2.2. Composición de la grasa láctea

Los resultados obtenidos (**Tabla 5.2**) muestran que, aunque con diferencias entre tratamientos, la grasa láctea tuvo un elevado contenido de ácidos grasos saturados (68-74%), mientras que los contenidos de ácidos grasos mono y poliinsaturados fueron muy inferiores (21-26% y 4-7%, respectivamente). Es generalmente aceptado que, desde el punto de vista de la salud humana, la grasa de la leche debería contener menos ácidos grasos saturados y más mono y poliinsaturados. Sin embargo, no todos los ácidos grasos dentro de esos grupos tienen los mismos efectos potenciales sobre la salud humana (Sanz Sampelayo *et al.*, 2007). Los contenidos de los diferentes ácidos grasos deben ser considerados individualmente para evaluar las propiedades saludables y nutritivas de la grasa láctea (Shingfield *et al.*, 2008). Por otra parte, los contenidos de ácidos grasos específicos, derivados del metabolismo lipídico microbiano, proporcionan información adicional sobre el impacto de las características de la ración sobre el ambiente ruminal (Colman *et al.*, 2010). Por tanto, conocer detalladamente el perfil de ácidos grasos de la leche es

fundamental para comprender el efecto de la ración suministrada a los animales sobre las cualidades saludables de la grasa láctea y el ambiente ruminal.

En el presente trabajo, el efecto de los carbohidratos mayoritarios en el concentrado de la ración y la inclusión de aceite de lino en aquella sobre la composición detallada de la grasa láctea se investigó en dos experimentos que se llevaron a cabo simultáneamente, en las mismas instalaciones, con animales procedentes de la misma ganadería, en una fase similar de la lactación y manejados de manera idéntica, a los que se suministró heno de alfalfa del mismo proveedor y concentrados fabricados con los mismos lotes de cereales, harina de soja y aceite de lino. Además, la asignación de los animales a los experimentos y tratamientos dentro de cada experimento se realizó por el procedimiento de bloques al azar, utilizando como criterio el peso vivo y la producción individual de leche medida durante los días previos al comienzo de las experiencias. Adicionalmente, el estudio de los datos mediante análisis de componentes principales, y el posterior análisis de la varianza de las puntuaciones factoriales de las observaciones (**Figuras 5.5 y 5.6**), así como el análisis discriminante realizado con ácidos grasos específicos (**Tabla 5.13, Figura 5.7**) mostraron que la magnitud de las respuestas al aceite de lino en los experimentos fue atribuible, al menos en parte, a las características del concentrado de la ración. Por todo ello, se pueden realizar inferencias causales sólidas del efecto de los tratamientos experimentales sobre la composición de la grasa láctea y presentar una discusión conjunta de los resultados de los experimentos 1 y 2.

Efectos específicos del concentrado

Las correlaciones de los ácidos grasos con los ejes factoriales en el análisis de componentes principales y la separación de los tratamientos conseguida mediante el análisis discriminante (**Figuras 5.5 y 5.7**) sugieren que hubo respuestas específicas de algunos grupos de ácidos grasos de la grasa láctea que fueron debidas a las características diferenciales de los concentrados de

ambos experimentos. En este sentido, la comparación mediante análisis de la varianza de los tratamientos control de los dos experimentos, para dejar de lado los efectos del aceite de lino, puso de manifiesto diferencias significativas en los contenidos totales de los ácidos grasos impares y los ramificados iso y anteiso, que fueron en torno a un 25% mayores en el experimento 2, y en los de C18:1 *trans* y C18:2 conjugados, que mostraron valores aproximadamente un 45% superiores en el experimento 1 (**Figura 5.9**). Estos resultados coinciden con los de Bas *et al.* (2003), quienes observaron una correlación negativa entre los contenidos de los ácidos grasos impares y ramificados y los de C18:1 *trans* de las bacterias ruminales, en cabras alimentadas con raciones que tuvieron tres niveles de forraje e incluyeron concentrados con diferentes proporciones de almidón y fibra neutro detergente.

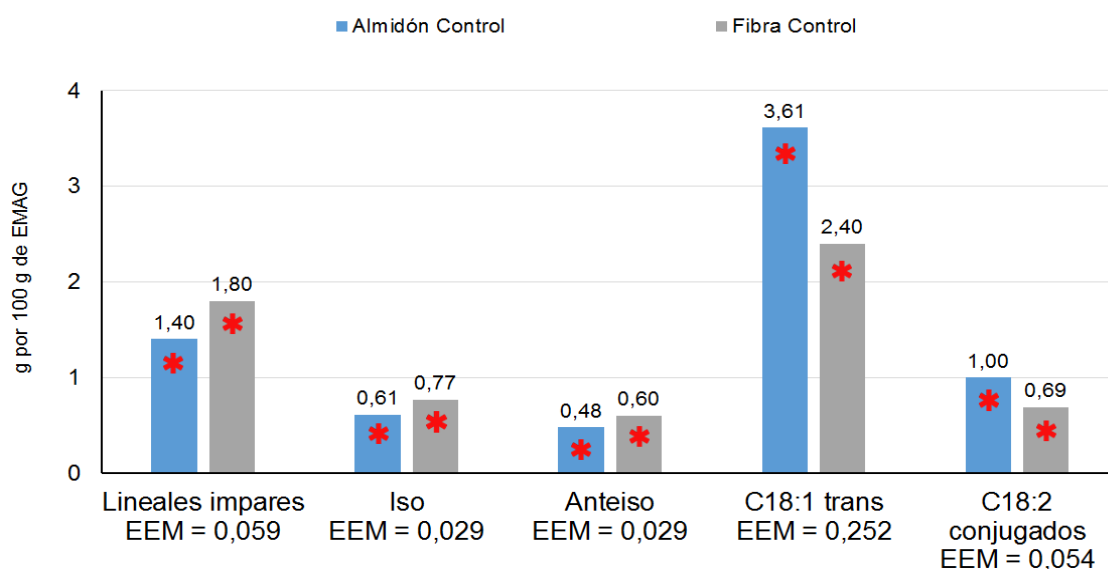


Figura 5.9. Contenidos de algunos grupos de ácidos grasos en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control). El símbolo (*) indica diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los tratamientos. EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos. EEM: error estándar de la media.

Los mayores contenidos de los ácidos C18:1 *trans*-10, vaccénico y ruménico en la grasa láctea del tratamiento control del experimento 1 (**Figura 5.10**) indicarían que los ácidos grasos insaturados consumidos sufrieron una biohidrogenación ruminal menos completa, probablemente relacionada con el mayor contenido de almidón de la ración en comparación con la del experimento 2. Resultados similares a los nuestros se han observado cuando las raciones suministradas a cabras han tenido una baja proporción de forraje (Mele *et al.*, 2008; Ollier *et al.*, 2009; Serment *et al.*, 2011) o peor estructura física del forraje (Li *et al.*, 2014a).

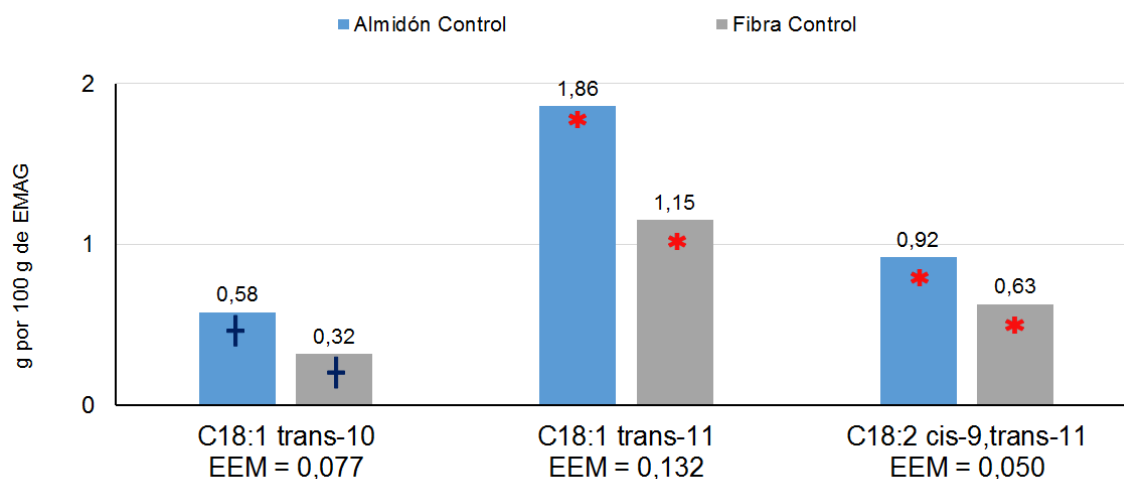


Figura 5.10. Contenidos de algunos ácidos grasos intermediarios de la biohidrogenación ruminal (C18:1 *trans*-11: vaccénico; C18:2 *cis*-9,*trans*-11; ruménico) en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control). Los símbolos (*) y (+) indican diferencias significativas ($P < 0,05$) y tendencia a la diferencia ($P < 0,10$), respectivamente, entre los tratamientos. EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos. EEM: error estándar de la media.

Numerosos estudios realizados con vacas han mostrado que los ácidos grasos impares y ramificados presentes en la leche, aunque cuantitativamente minoritarios, pueden servir como indicadores no invasivos de la función ruminal (Vlaeminck *et al.*, 2006c; Fievez *et al.*, 2012). Recientemente, Li *et al.* (2014a)

señalaron que la presencia de dichos ácidos grasos en la leche de cabra también podría utilizarse como indicador de los cambios de las poblaciones bacterianas del rumen en respuesta a la composición de la ración. Los resultados del análisis discriminante realizado con los datos obtenidos en el presente trabajo (**Tabla 5.13, Figura 5.7**) confirmaron la propuesta de dichos autores. Los ácidos grasos impares y ramificados mostraron una elevada precisión para la identificación de las raciones consumidas por los animales (5 observaciones mal clasificadas de un total de 32), lo que apoya la estrecha relación entre sus contenidos en la grasa láctea y el impacto de la composición de las raciones en las poblaciones microbianas ruminales (Vlaeminck *et al.*, 2006b). Las proporciones de los carbohidratos en la ración basal se reflejaron en los contenidos de C14:0 iso (indicador de las raciones ricas en fibra neutro detergente) y C17:0 anteiso (indicador de las raciones ricas en almidón. Estos resultados están en concordancia con las correlaciones positiva y negativa del porcentaje de C14:0 iso en la grasa láctea con los contenidos de fibra neutro detergente y almidón en la ración, que se han observado previamente en vacas (Vlaeminck *et al.*, 2006a). Las especies bacterianas celulolíticas se caracterizan generalmente por un elevado contenido de ácidos grasos iso (Fievez *et al.*, 2012) y son mayoritariamente responsables de la biohidrogenación ruminal de los ácidos grasos insaturados presentes en los alimentos consumidos por los animales (Martin y Jenkins, 2002; Shingfield y Wallace, 2014). Vlaeminck *et al.* (2006a) indicaron que un aumento del contenido de C14:0 iso en la grasa láctea puede interpretarse como un ambiente ruminal favorable para el crecimiento de las bacterias celulolíticas, mientras que el aumento del contenido de los ácidos grasos intermediarios de la biohidrogenación ruminal se asocia con una menor actividad de las bacterias responsables de la misma (Boeckert *et al.*, 2008). En el presente estudio, C14:0 iso mostró correlaciones negativas con C18:1 *trans*-10 y C18:2 *trans*-10,*cis*-12 (**Tabla 5.11**). Estos ácidos grasos son productos intermediarios de una ruta secundaria de biohidrogenación ruminal relacionada con el consumo de cantidades elevadas de almidón (Griinari y Bauman, 1999; Zened *et al.*, 2013; Shingfield y Wallace, 2014). Por el contrario, C17:0 anteiso no mostró correlaciones significativas con dichos ácidos grasos intermediarios

de la biohidrogenación en coincidencia con lo observado en vacas por Vlaeminck *et al.* (2006a). Por tanto, en nuestro trabajo, la mayor disponibilidad de almidón en el rumen en el experimento 1 pudo favorecer el crecimiento de las bacterias amilolíticas en detrimento de las celulolíticas con la consiguiente reducción de la eficacia de la biohidrogenación ruminal y una modificación del perfil de ácidos grasos que llegaron a intestino delgado, que se reflejó en la grasa láctea con un aumento de los contenidos de ácidos grasos intermediarios de la biohidrogenación ruminal y una disminución de los contenidos de ácidos grasos impares y ramificados (**Figura 5.9**). En apoyo de lo anterior, trabajos previos realizados con cabras han reportado que la alteración del ambiente ruminal por cambios en las características de la ración suministrada (variación de la relación forraje/concentrado o de la proporción de fibra neutro detergente físicamente efectiva) ocasiona la disminución relativa de las poblaciones bacterianas celulolíticas y resulta en menores proporciones de los ácidos grasos iso en el contenido ruminal (Sun *et al.*, 2010, Li *et al.*, 2014b), así como una disminución de los contenidos de ácidos grasos iso en la grasa láctea y un aumento simultáneo de los contenidos de ácidos grasos intermediarios de la biohidrogenación ruminal (Serment *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2014a). Adicionalmente, la relación positiva de C17:0 anteiso con las raciones ricas en almidón podría deberse a una elongación más activa de C15:0 anteiso en el organismo de los animales que las consumieron (Vlaeminck *et al.*, 2015). Este aspecto se discute más adelante.

Las diferencias entre los tratamientos control de ambos experimentos en los contenidos de los ácidos butírico y cetoesteárico de la grasa láctea (**Figura 5.11**) también apoyarían la existencia de cambios en las proporciones relativas de las poblaciones bacterianas del rumen en favor de las bacterias amilolíticas en el experimento 1. El ácido butírico de la grasa láctea deriva mayoritariamente (50-60%) del β -hidroxibutirato captado por la ubre que procede del rumen (Palmquist, 2006). El ácido cetoesteárico es un producto de la hidratación del ácido oleico realizada por especies bacterianas ruminales con actividad amilolítica (Shingfield y Wallace, 2014).

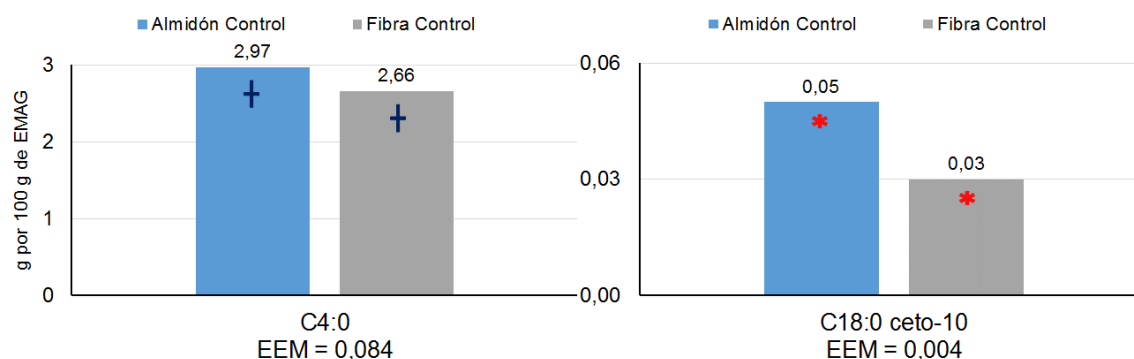


Figura 5.11. Contenidos de los ácidos butírico (C4:0) y cetoesteárico (C18:0 ceto-10) en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control). Los símbolos (*) y (+) indican diferencias significativas ($P < 0,05$) y tendencia a la diferencia ($P < 0,10$), respectivamente, entre los tratamientos. EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos. EEM: error estándar de la media.

En el presente trabajo, usamos tentativamente ecuaciones obtenidas en vacas, ante la ausencia de ecuaciones similares obtenidas en cabras, para calcular las proporciones molares de ácidos grasos volátiles en el rumen (Bhagwat *et al.*, 2012) y la producción diaria de metano (Dijkstra *et al.*, 2011; Van Lingen *et al.*, 2014) a partir de los contenidos de ácidos grasos específicos de la grasa láctea (**Tabla 5.12**). Adicionalmente, calculamos la producción de metano a partir de la ecuación de Patra y Lalhriatpuii (2016), obtenida en cabras y basada en el consumo de fibra neutro detergente (**Tabla 5.12**). Los resultados obtenidos estuvieron en consonancia con trabajos realizados con cabras en los que se estudiaron las variaciones de los parámetros de fermentación ruminal en respuesta a cambios en la composición de la ración. La mayor proporción molar de acetato en el experimento 2 y de propionato en el experimento 1 (**Figura 5.12**) podrían explicarse por los diferentes contenidos de fibra neutro detergente y almidón de las raciones, de acuerdo con los resultados de Archimède *et al.* (1996), Cantalapiedra-Hijar *et al.* (2009), Sun *et al.* (2010), Serment *et al.* (2011) y Li *et al.* (2014b). El incremento de la proporción molar de propionato en el rumen se asocia con la proliferación de las bacterias amilolíticas por la mayor disponibilidad de almidón en el rumen (Sun *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2014b).

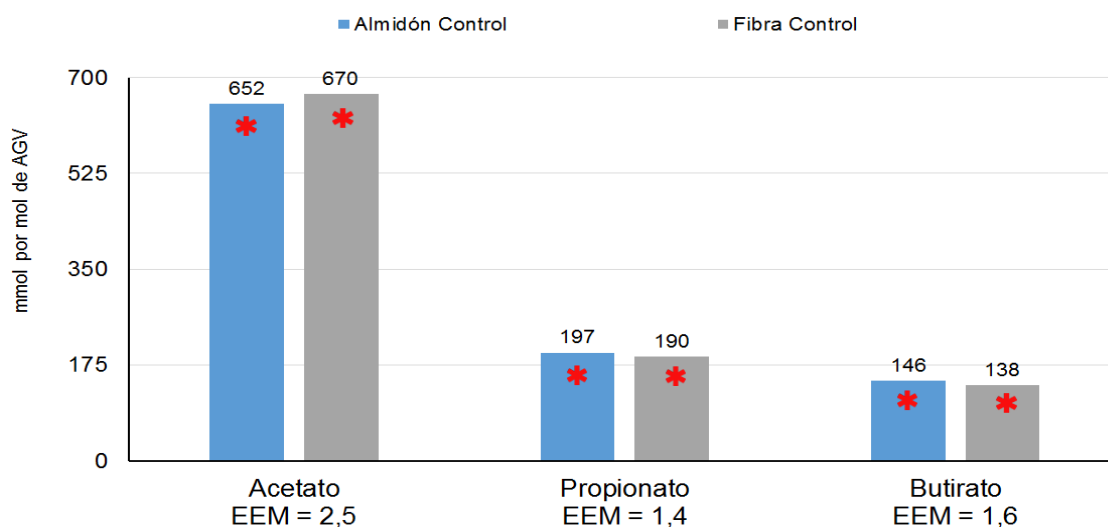


Figura 5.12. Proporciones calculadas de ácidos grasos volátiles en el rumen de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control). El símbolo (*) indica diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los tratamientos. EEM: error estándar de la media.

Por otra parte, la producción de metano se relaciona con la formación de acetato (el principal producto de la digestión bacteriana de las paredes vegetales) se acompaña de la liberación de hidrógeno molecular y dióxido de carbono que pueden ser utilizados por las bacterias metanogénicas del rumen (Benchaa *et al.*, 2001). Los valores calculados de producción diaria de metano fueron significativamente diferentes entre los tratamientos control de ambos experimentos con independencia de la ecuación utilizada en el cálculo (**Figura 5.13**), lo que sugiere una estrecha relación entre los ácidos grasos derivados del metabolismo lipídico bacteriano que se encuentran presentes en la leche y el consumo de fibra neutro detergente. Una mayor producción diaria de metano en la ración control del experimento 2 que en la del experimento 1 estaría en concordancia con las observaciones de Ibañez *et al.* (2015a, 2015b), quienes reportaron en cabras un aumento de la producción de acetato y metano en respuesta a la sustitución del maíz de la ración por pulpa de remolacha deshidratada y de la cebada por cascarilla de soja y gluten feed de maíz.

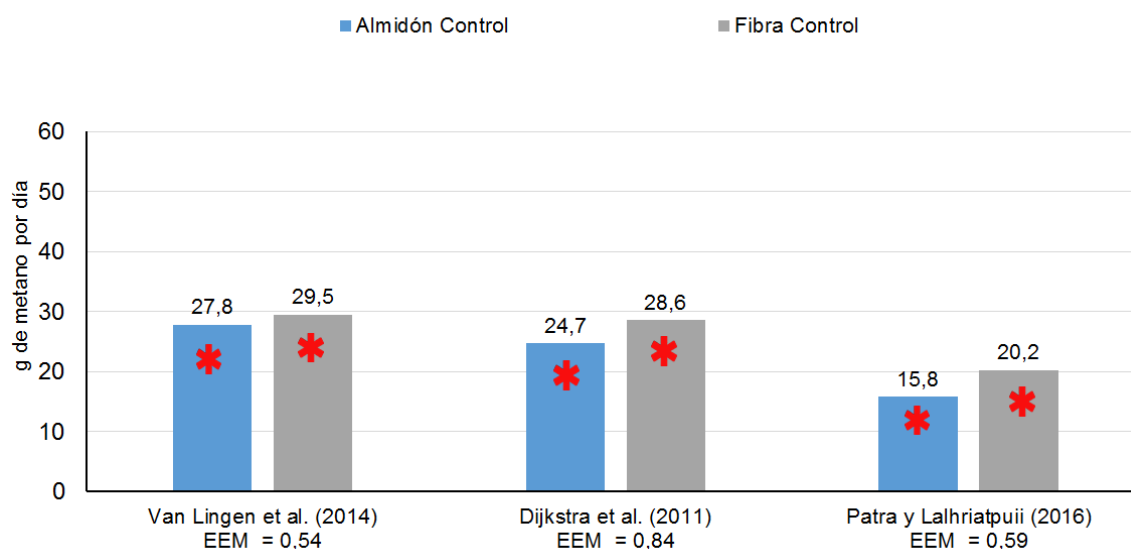


Figura 5.13. Producción diaria calculada de metano en el rumen de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control). El símbolo (*) indica diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los tratamientos. EEM: error estándar de la media.

Efectos específicos del aceite de lino

Los resultados del análisis de componentes principales (**Figuras 5.5 y 5.6**) indicaron que, en conjunto, el aceite de lino tuvo un fuerte impacto sobre los contenidos de los ácidos grasos de la grasa láctea en ambos experimentos, aunque la magnitud de las diferencias entre los tratamientos fue más acentuada en el experimento 2. Estos resultados sugieren que el perfil de ácidos grasos de la leche mostró más similitudes entre los tratamientos con aceite de ambos experimentos que entre los tratamientos control.

Ácidos grasos saturados pares y sus productos de Δ -9 desaturación

Los tratamientos con aceite no afectaron a los contenidos de los ácidos butírico, caproico y caprílico en la grasa láctea, pero redujeron los de los ácidos laúrico, mirístico y palmítico (**Tabla 5.3, Figura 5.14**). Las diferentes respuestas de los ácidos grasos de cadena corta (C4:0 a C8:0) y media (C12:0 a C16:0), que son sintetizados mayoritariamente *de novo* en la glándula mamaria con excepción

del ácido butírico, al consumo de raciones con fuentes vegetales de grasa es una observación común en experimentos realizados con las cabras (Martínez Marín *et al.*, 2013e; Martínez Marín *et al.*, 2015b) y otros rumiantes (Shingfield *et al.*, 2008; Shingfield *et al.*, 2013). Sin embargo, hasta donde sabemos, esta es la primera vez que se reporta el efecto en relación con el tipo de carbohidratos mayoritarios en el concentrado de la ración. La síntesis *de novo* de los ácidos grasos saturados en la glándula mamaria requiere disponer de acetil-CoA, la presencia de las enzimas acetil-CoA carboxilasa y ácido graso sintetasa, así como de poder reductor en forma de NADPH (Barber *et al.*, 1997). Por tanto, la disminución observada podría explicarse, bien por una menor disponibilidad de acetato a causa de un impacto negativo del aceite consumido sobre la digestión ruminal de los carbohidratos fibrosos, o bien por un efecto directo de la mayor disponibilidad de ácidos grasos de cadena larga sobre la actividad de las enzimas mamarias (Chilliard y Ferlay, 2004). En nuestro trabajo, solo hubo pequeñas diferencias en las proporciones molares calculadas de acetato ruminal entre los tratamientos control y con aceite en ambos experimentos (**Tabla 5.12**). Por tanto, es más probable que ocurriera un efecto negativo directo de los ácidos grasos de cadena larga absorbidos en el intestino delgado sobre la actividad enzimática de la glándula mamaria. El hecho de que el efecto negativo se limitara a los ácidos grasos de cadena media coincide con Bauman y Davies (1974) quienes reportaron resultados obtenidos *in vitro* indicativos de que la disminución del valor de la relación de las actividades de las enzimas acetil-CoA carboxilasa y ácido graso sintetasa resulta en un cambio del perfil de ácidos grasos sintetizados *de novo* hacia los de cadena más corta. A partir de sus datos y los de trabajos previos con cabras obtenidos *in vivo*, Martínez Marín *et al.* (2011a) señalaron que dicha explicación es la más probable. Por otra parte, la síntesis de los ácidos grasos saturados de cadena corta ocurre parcialmente a partir de butirato activado (butiril-CoA), no siendo necesaria la producción de malonil-CoA y, por tanto, no está afectada por cambios en la actividad de la enzima acetil-CoA carboxilasa (Palmquist, 2006), lo que justifica la ausencia de cambios en los contenidos de dichos ácidos grasos en respuesta al consumo de aceite en nuestro trabajo (**Tabla 5.3**).

En los últimos años, se ha postulado que los cambios en la síntesis *de novo* y la Δ -9 desaturación en la glándula mamaria se deben a un efecto regulador combinado sobre la actividad de las enzimas responsables de la lipogénesis y la expresión de los genes que las codifican, que comprende la disponibilidad mamaria de: i) acetato para la síntesis *de novo*, ii) ácidos grasos de cadena larga susceptibles de ser desaturados, y iii) ácidos grasos intermediarios de la biohidrogenación ruminal con dobles enlaces en posición *trans* (Bernard *et al.*, 2008; Shingfield *et al.*, 2010b; Bernard *et al.*, 2013). La finalidad principal de dicha regulación sería el mantenimiento del punto de fusión de la grasa láctea dentro del rango fisiológico (Toral *et al.*, 2013).

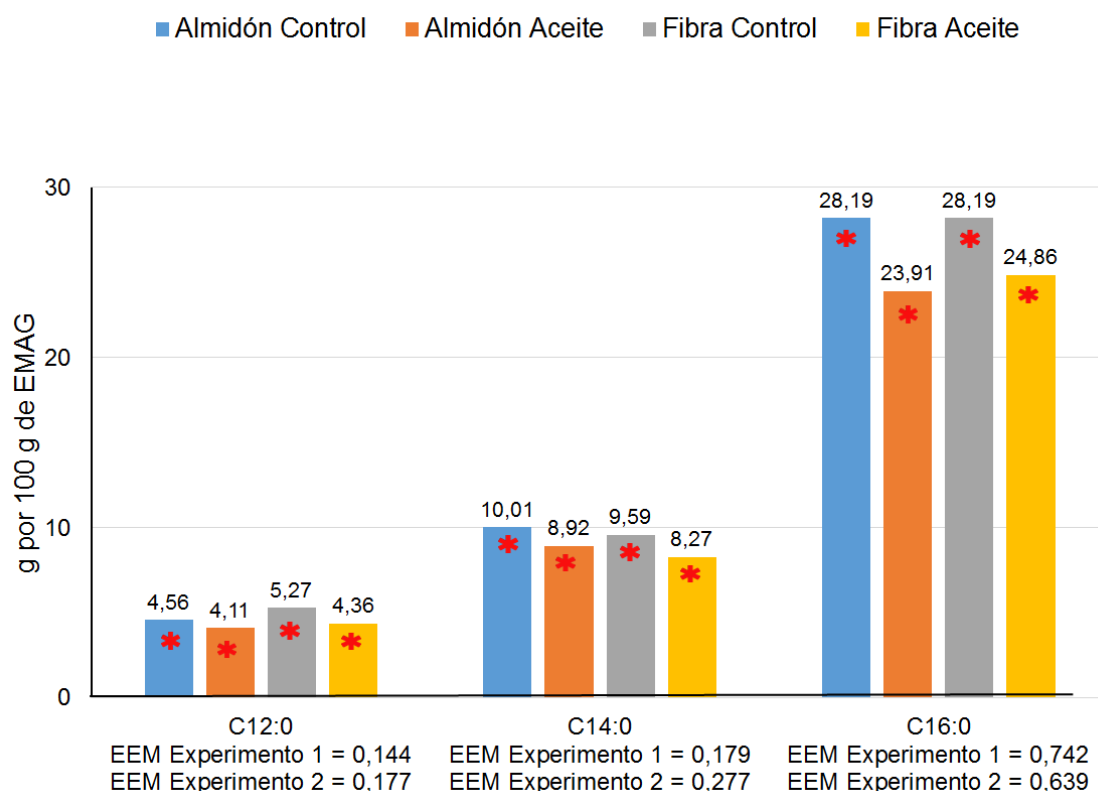


Figura 5.14. Contenidos de los ácidos láurico (C12:0), mirístico (C14:0) y palmítico (C16:0) en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). Dentro de un experimento (1 ó 2), el símbolo (*) indica diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los tratamientos. EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos. EEM: error estándar de la media.

Los índices de Δ -9 desaturación sirven como estimación de la actividad de la enzima estearoil-CoA desaturasa en la glándula mamaria, aunque el más fiable es C14:1 *cis*-9/(C14:0 + C14:0 *cis*-9) porque prácticamente todo el C14:1 *cis*-9 es sintetizado en la glándula mamaria (Bernard *et al.*, 2008). En general, la adición de fuentes de grasa a la ración de cabras reduce los índices comunes de desaturación (Bernard *et al.*, 2005; Mele *et al.*, 2008; Martínez Marín *et al.*, 2011a). El hecho de que los índices de Δ -9 desaturación de los ácidos mirístico y palmítico únicamente respondieran negativamente al aceite de lino en el experimento 1, pero los contenidos de C14:1 *cis*-9 y C16:1 *cis*-9 disminuyeran por el aceite en ambos experimentos (**Tablas 5.4 y 5.7**) podría justificarse en el contexto de la discusión planteada en el párrafo anterior. En el experimento 2, el efecto combinado del mayor aporte de fibra neutro detergente y el aceite de lino sobre el metabolismo lipídico ruminal pudo modificar el perfil de ácidos grasos absorbidos en el intestino delgado, en comparación con el tratamiento control, y afectar a la lipogénesis mamaria de tal forma que fuera necesario mantener la actividad de la Δ -9 desaturasa sobre determinados ácidos grasos, para contribuir al mantenimiento de la fluidez de la grasa láctea dentro de un rango fisiológico, en línea con la hipótesis de Chilliard *et al.* (2006). En el mismo sentido, Li *et al.* (2012) no observaron cambios en los índices de desaturación de los ácidos mirístico, palmítico y esteárico en la grasa láctea por la inclusión de aceite de lino en la ración de cabras, pero la expresión de los genes que codifican la enzima estearoil-CoA desaturasa en la glándula mamaria fue mayor que en el tratamiento sin aceite.

Debido a la biohidrogenación ruminal, cualquier ácido graso insaturado de 18 átomos de carbono presente en el rumen puede convertirse a ácido esteárico, que a su vez puede utilizarse en la glándula mamaria tras su absorción intestinal. El ácido oleico de la grasa láctea procede de la captación mamaria de ácido oleico preformado procedente de la dieta o de la movilización de reservas corporales de grasa, o de la Δ -9 desaturación mamaria del ácido esteárico procedente del rumen o de la grasa corporal movilizada (MacGibbon y Taylor, 2006; Mosley y McGuire, 2007). En el presente trabajo, los animales no

perdieron peso en ningún tratamiento. Por tanto, la ausencia de diferencias en los contenidos de ácido esteárico de la grasa láctea entre los tratamientos control y con aceite en ambos experimentos (**Tabla 5.3, Figura 5.15**), a pesar del mayor aporte de ácidos grasos insaturados de 18 átomos de carbono de los segundos (**Tabla 5.10**), pudo deberse a una biohidrogenación ruminal menos completa y menor llegada de lo esperado de ácido esteárico a intestino delgado, o a una mayor Δ -9 desaturación del ácido esteárico captado por la glándula mamaria. La primera opción parece la más probable porque en los tratamientos con aceite de ambos experimentos se observó una disminución del valor del índice de desaturación del ácido esteárico (**Tabla 5.4**) y un aumento de los ácidos grasos intermediarios de las vías de biohidrogenación ruminal (**Tabla 5.2**).

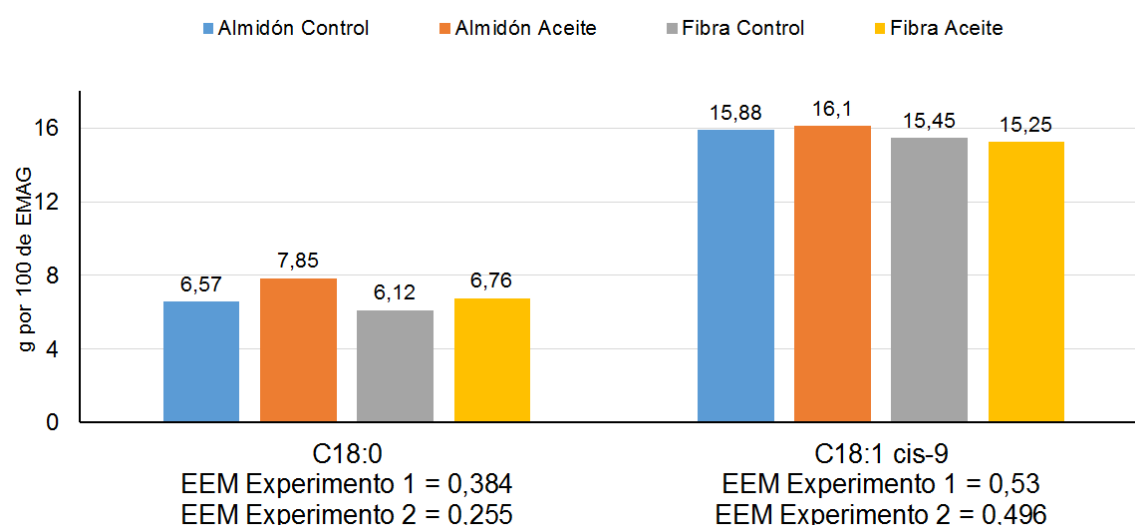


Figura 5.15. Contenidos de los ácidos esteárico (C18:0) y oleico (C18:1 *cis*-9) en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos. EEM: error estándar de la media.

En el mismo sentido, la ausencia de cambios en los contenidos de ácido oleico en ambos experimentos (**Tabla 5.6, Figura 5.15**), se debería a que el consumo

de aceite no resultó en un mayor aporte de ácido esteárico ni de ácido oleico preformado a la glándula mamaria. Igualmente, la transferencia aparente de los ácidos esteárico y oleico desde la ración a la leche se redujo pronunciadamente en los tratamientos con aceite de ambos experimentos, indicando que la mayor disponibilidad de sustratos (ácidos grasos insaturados de la ración) para biohidrogenación ruminal no resultó en una mayor producción de dichos ácidos grasos en la leche (**Tabla 5.10**). La relación entre la captación mamaria de ácido esteárico y la producción de ácido oleico por Δ -9 desaturación es lineal (Glasser *et al.*, 2008b), estimándose que más del 60% del contenido del segundo en la grasa láctea deriva de la Δ -9 desaturación del primero (Mosley y McGuire, 2007). A diferencia de lo observado en el presente trabajo, la inclusión de fuentes vegetales de grasa en la ración de cabras tiene habitualmente efectos positivos sobre los contenidos de los ácidos esteárico y oleico en la grasa láctea (Martínez Marín *et al.*, 2013e; Martínez Marín *et al.*, 2015b).

El mayor contenido de ácido cetoesteárico en la grasa láctea de los tratamientos con aceite (**Tabla 5.3**) podría deberse al mayor aporte de ácido oleico de las raciones en dichos tratamientos (**Tabla 4.4**) en concordancia con los resultados de Martínez Marín *et al.* (2013a) quienes encontraron incrementos de este ácido graso en la grasa láctea de cabras que consumieron aceite de lino con la ración sólida, pero no en las que consumieron la misma cantidad de aceite, eludiendo el paso por el rumen a través de la gotera esofágica. Adicionalmente, ensayos *in vitro* han mostrado que el ácido oleico es un sustrato para la formación microbiana de ácido cetoesteárico, vía ácido hidroxisteárico (Jenkins *et al.*, 2006; McKain *et al.*, 2010), que fue identificado por Márquez-Ruiz *et al.* (2011) en grasa láctea por cromatografía de gases precedida de extracción en fase sólida.

Ácidos grasos impares y ramificados

En general, los ácidos grasos impares respondieron positivamente al aceite de lino en el experimento 1, mientras que los ácidos grasos iso y anteiso tuvieron

respuestas negativas en el experimento 2 (**Tabla 5.2**). Debido a estos cambios, las diferencias observadas en los contenidos de estos ácidos grasos entre los tratamientos control de ambos experimentos (**Figura 5.9**) desaparecieron cuando se compararon los tratamientos con aceite (**Figura 5.16**). Pocos trabajos han investigado en detalle los contenidos de los ácidos grasos ramificados en la grasa láctea de cabras (Massart-Leën *et al.*, 1981; Alonso *et al.*, 1999). Algunos de estos ácidos grasos, como el 4-metiloctanoato (identificado en el presente trabajo), confieren aromas característicos a los productos lácteos (Woo y Lindsay, 1984) y parece que son exclusivos de la leche caprina y ovina, ya que no aparecen en la leche de vaca (Massart-Leën *et al.*, 1981, Ha y Lindsay, 1993).

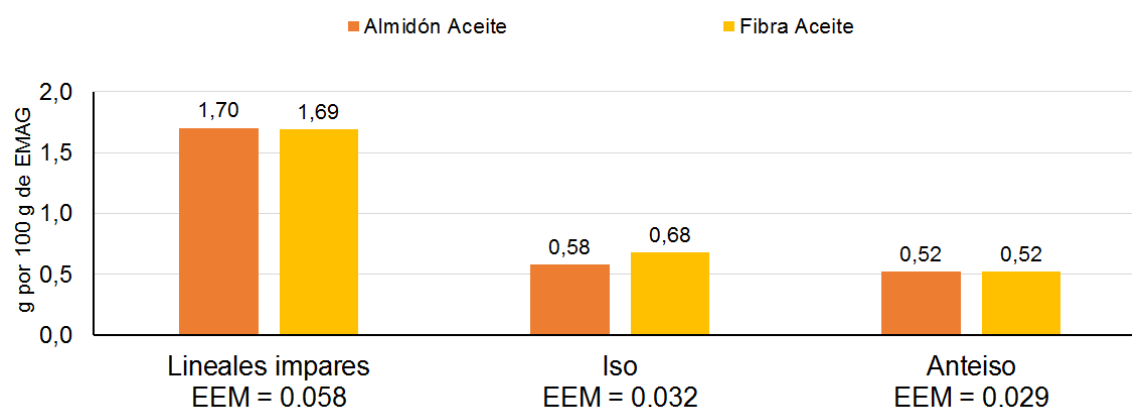


Figura 5.16. Contenidos de algunos grupos de ácidos grasos en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), con aceite de lino (Aceite). EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos. EEM: error estándar de la media.

Las diferentes respuestas observadas en los tratamientos del presente trabajo sugieren una interacción entre la ración basal y el aceite de lino con efectos a nivel ruminal y mamario, que podrían explicarse por los distintos orígenes de los ácidos grasos impares y ramificados de la grasa láctea. En el experimento 1, el aumento de los contenidos de C5:0 a C11:0, 4-metiloctanoato y 4-metildodecanoato en la grasa láctea del tratamiento con aceite (**Tablas 5.3 y**

5.4) indicaría una mayor utilización de propionato, escapado a la gluconeogénesis hepática, y su derivado, el metil-malonato para la síntesis *de novo* en la glándula mamaria (Massart-Leën *et al.*, 1983; Vlaeminck *et al.*, 2006a; Heck *et al.*, 2012).

También se observó que el aceite causó la disminución de los ácidos grasos iso respecto a los anteiso y el aumento del valor de la suma de C13:0, C15:0, C17:0 y C17:1 *cis*-9 en el experimento 1, mientras que no afectó al contenido de ácidos grasos iso en relación con los anteiso y disminuyó el valor de la suma de C13:0, C15:0, C17:0 y C17:1 *cis*-9 en el experimento 2 (**Figura 5.17**). Los ácidos grasos iso son mayoritarios en algunas especies bacterianas celulolíticas (Vlaeminck *et al.*, 2006a; Fievez *et al.*, 2012). Los ácidos C13:0, C15:0 y C17:0 proceden mayoritariamente de la síntesis *de novo* bacteriana en el rumen a partir propionato y ácidos grasos volátiles ramificados resultantes de la degradación de aminoácidos (Bas *et al.*, 2003; Vlaeminck *et al.*, 2006a), y C17:1 *cis*-9 es producido en la glándula mamaria por Δ -9 desaturación del C17:0 disponible (Fievez *et al.*, 2003; Shingfield *et al.*, 2007). Por tanto, los resultados obtenidos en el presente trabajo indicarían un efecto diferente del aceite de lino sobre las poblaciones microbianas ruminales predominantes en ambos experimentos. Adicionalmente, el aumento del valor de la suma de C13:0, C15:0, C17:0 y C17:1 *cis*-9 en la grasa láctea del tratamiento con aceite del experimento 1 también pudo deberse, al menos en parte, a una mayor utilización mamaria de propionato no utilizado en la gluconeogénesis hepática, bien para la síntesis *de novo* bien para la elongación de C15:0 a C17:0 en la glándula mamaria de los animales que consumieron dicha ración (Massart-Leën *et al.*, 1983; French *et al.*, 2012; Vlaeminck *et al.*, 2015).

A pesar de las diferencias entre los tratamientos con aceite de ambos experimentos señaladas anteriormente, el análisis discriminante permitió separar con precisión dichos tratamientos de los respectivos tratamientos control (**Tabla 5.13, Figura 5.7**), poniendo de manifiesto que el aceite de lino también tuvo efectos comunes sobre los contenidos de ácidos grasos

synthesized *de novo* by the ruminal bacteria in both experiments, which could be interpreted from the double perspective of changes in the bacterial lipid metabolism and/or of the relative proportions of the bacterial populations.

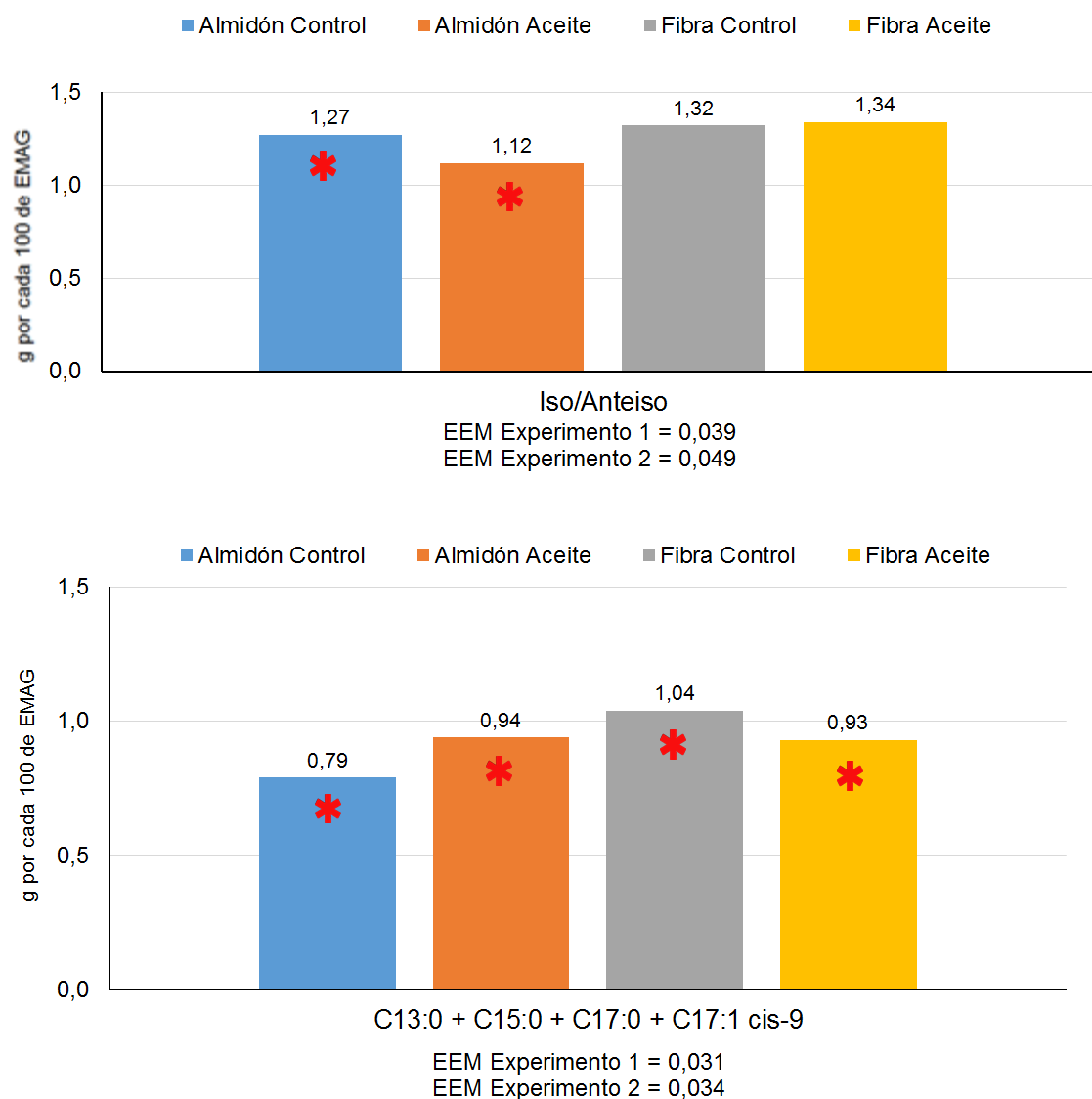


Figura 5.17. Relación entre los contenidos de los ácidos grasos iso y anteiso (**a**) y contenido total de ácidos grasos impares de cadena media (**b**) en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). Dentro de un experimento (1 ó 2), el símbolo (*) indica diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los tratamientos. EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos. EEM: error estándar de la media.

Así, los contenidos de C18:0 iso y C13:0 iso en la grasa láctea fueron indicativos de las raciones sin aceite de lino, lo que se justificaría porque el incremento de los ácidos grasos en la ración inhibe la síntesis *de novo* de ácidos grasos por parte de las bacterias ruminales (Demeyer *et al.*, 1978). Sin embargo, ello no excluye la posibilidad de un efecto inhibitorio del aceite sobre algunas especies bacterianas con mayores proporciones de ácidos grasos iso, como son las bacterias celulolíticas (Vlaeminck *et al.*, 2006a; Fievez *et al.*, 2012). Estas bacterias se consideran las principales responsables de la ruta habitual de la biohidrogenación ruminal que conduce a la formación de ácido esteárico vía C18:2 *cis*-9,*trans*-11 y C18:1 *trans*-11 (Martin y Jenkins, 2002; Shingfield y Wallace, 2014). En este sentido, C13:0 iso y C18:0 iso se correlacionaron negativamente con dichos ácidos grasos (**Tabla 5.11**), aunque C13:0 iso también se correlacionó negativamente con C18:1 *trans*-10 y C18:2 *trans*-10,*cis*-12 que pertenecen a una ruta secundaria propia de condiciones ruminales alteradas (Zened *et al.*, 2013; Shingfield y Wallace, 2014). Además, la capacidad discriminante de la suma de C17:0 y C17:1 *cis*-9, indicando las raciones con aceite de lino, podría relacionarse con un aumento relativo de las bacterias amilolíticas respecto a las celulolíticas debido a la presencia de aceite en la ración, ya que las primeras son especialmente ricas en ácidos grasos impares de cadena lineal (Vlaeminck *et al.*, 2006a; Fievez *et al.*, 2012). Ello no excluye que pudiera ocurrir una elongación más activa de C15:0 a C17:0 en la glándula mamaria de los animales que consumieron dichas raciones (French *et al.*, 2012; Vlaeminck *et al.*, 2015).

Vlaeminck *et al.* (2015) observaron en vacas una mayor producción de C17:0 iso y C17:0 anteiso en la leche en comparación con su presencia en duodeno y menores valores de las relaciones C15:0 iso/C17:0 iso y C15:0 anteiso/C17:0 anteiso en los triacilglicerolés del plasma y la leche en comparación con los contenidos duodenales, lo que sugiere que, en ausencia de movilización de las reservas corporales de grasa, parte de los contenidos de C17:0 iso y C17:0 anteiso en la grasa láctea proceden de la elongación de C15:0 iso y C17:0 anteiso en el epitelio intestinal y/o el hígado, mediante la adición de unidades de

dos átomos de carbono. Estos autores estimaron que un 44% de C17:0 iso y entre un 33 y 52% de C17:0 anteiso fueron de origen endógeno en la grasa láctea de su estudio. En el presente trabajo, estudiamos las relaciones entre los contenidos de dichos pares de ácidos grasos en la grasa mediante regresión lineal, de acuerdo con el modelo propuesto por Palmquist *et al.* (2004).

Los coeficientes de regresión de las ecuaciones obtenidas (**Figura 5.3**) permitieron calcular que la utilización de C15:0 iso para la elongación a C17:0 iso fue de un 43% y la utilización de C15:0 anteiso para la elongación a C17:0 anteiso fue de un 38%. Por tanto, un 50% de C17:0 iso y un 40% de C17:0 anteiso presentes en la grasa láctea derivaron de la elongación de C15:0 iso y C15:0 anteiso, respectivamente, en el organismo. Estos valores son muy próximos a los obtenidos en el estudio de Vlaeminck *et al.* (2015), lo que indicaría que en las cabras también existe actividad de la enzima elongasa de ácidos grasos ELOVL6. La expresión de los genes que codifican la enzima ELOVL6 se ha demostrado en células del epitelio mamario de cabras (Xu *et al.*, 2016), pero ello no excluye que, al igual que sugirieron Vlaeminck *et al.* (2015), la elongación ocurriera en tejidos extramamarios. Por otra parte, los índices de elongación -definidos como la relación producto/(producto + sustrato)- tuvieron valores menores en los tratamientos con aceite de lino de ambos experimentos (**Tabla 5.5**), indicando que, de alguna manera, el aceite afectó negativamente a la actividad de la enzima elongasa de ácidos grasos. Sin embargo, Bichi *et al.* (2013) no observaron diferencias en la expresión de los genes que codifican la enzima ELOVL6 en ovejas por la adición de aceite de algas a una ración con aceite de girasol

El efecto del aceite de lino sobre los ácidos grasos impares y ramificados y los productos intermediarios de la biohidrogenación ruminal se reflejó a su vez en las proporciones molares calculadas de los ácidos grasos volátiles en el rumen y la producción diaria calculada de metano (**Tabla 5.12**). La reducción de la proporción molar de acetato en los tratamientos con aceite de ambos experimentos y el incremento del propionato únicamente en el experimento 1,

sugieren que el aceite tuvo un efecto negativo únicamente sobre las bacterias celulolíticas, en consonancia con las observaciones *in vitro* de Maia *et al.* (2007) y Maia *et al.* (2010) y los resultados *in vivo* de Yang *et al.* (2009). La disminución de la producción de metano observada en los tratamientos con aceite coincide con un efecto negativo del mismo sobre las bacterias celulolíticas, de acuerdo con los resultados de Benchaar *et al.* (2001). Por otra parte, el efecto depresor de la grasa de la ración y la inclusión de aceites a la misma sobre la producción de metano en cabras ha quedado de manifiesto en los trabajos de Li *et al.* (2009), Jeong *et al.* (2012) y Patra y Lalhriatpuui (2016).

En conjunto, nuestros resultados indican que los contenidos de los ácidos grasos impares y ramificados en la grasa láctea son indicadores precisos de las características de la ración, lo que podría estar mediado por el efecto de ésta sobre las poblaciones bacterianas del rumen. Además, los resultados sugieren que las proporciones molares de los ácidos grasos volátiles en el rumen y la producción diaria de metano podrían predecirse con ecuaciones a partir de los contenidos de ácidos grasos derivados del metabolismo lipídico de las bacterias ruminales en la grasa láctea, al igual que se hace en vacas.

Ácidos grasos intermediarios de la biohidrogenación ruminal

Algunos ácidos grasos presentes en la grasa láctea son comunes en las rutas biohidrogenación ruminal de los ácidos oleico, linoleico y α -linolénico, mientras que otros son específicos de las rutas de uno o dos de dichos ácidos grasos (Shingfield y Wallace, 2014). Martínez Marín *et al.* (2015b) establecieron relaciones entre la presencia de ácidos grasos con 18 átomos de carbono de origen exclusivamente ruminal y/o mamario en la leche y los ácidos oleico, linoleico y α -linolénico de la ración consumida. En el presente trabajo, la inclusión de aceite de lino en la ración supuso un aumento de los aportes de los ácidos oleico, linoleico y, sobre todo, α -linolénico a los animales, mientras que los valores de transferencia aparente de dichos ácidos grasos desde la ración a la leche indicaron que la biohidrogenación ruminal fue incompleta (**Tabla 5.10**).

En consonancia con lo anterior, los resultados obtenidos mostraron que la inclusión de aceite de lino en la ración ocasionó respuestas positivas en la gran mayoría de los ácidos grasos intermediarios de la biohidrogenación ruminal en ambos experimentos (**Tablas 5.6 y 5.8**).

Entre los C18:1 *trans* relacionados específicamente con el ácido oleico presente en el aceite de lino -C18:1 *trans*-4 a *trans*-8 de acuerdo con Martínez Marín *et al.* (2015a) (**Tabla 5.6**)-, se observó que todos mostraron respuestas comunes, ya fueran nulas o positivas, a la inclusión de aceite en la ración en ambos experimentos, con excepción de C18:1 *trans*-6/*trans*-7 cuyo contenido disminuyó en el experimento 1 y aumentó en el experimento 2. Dado que C18:1 *trans*-7 es precursor de prácticamente todo el C18:2 *trans*-7,*cis*-9 presente en la grasa láctea (Corl *et al.*, 2002; Shingfield *et al.*, 2007), cuyo contenido no cambió en el experimento 1 pero aumentó en el experimento 2 (**Tabla 5.8**), y que el valor del índice de Δ -9 desaturación de C18:1 *trans*-7 tuvo un mayor aumento relativo en el experimento 2 (**Tabla 5.4**), es plausible que las condiciones de dicho experimento favorecieron la producción ruminal de C18:1 *trans*-7 y, por tanto, su disponibilidad para la glándula mamaria.

El contenido de ácido C18:1 *trans*-12, que se relaciona con la biohidrogenación del ácido oleico pero también con las de los ácidos linoleico y α -linolénico (Martínez Marín *et al.*, 2015a), aumentó en la grasa láctea de los tratamientos con aceite de ambos experimentos (**Tabla 5.6**), y también lo hizo el contenido de C18:2 *cis*-9,*trans*-12 (**Tabla 5.8**). Shingfield *et al.* (2007) señalaron que la presencia de C18:2 *cis*-9,*trans*-12 en la leche se debe casi exclusivamente a la Δ -9 desaturación de C18:1 *trans*-12 en la glándula mamaria. Sin embargo, el índice de Δ -9 desaturación de C18:1 *trans*-12 disminuyó en los tratamientos con aceite de nuestro trabajo (**Tabla 5.4**), sugiriendo que el origen de C18:2 *cis*-9,*trans*-12 podría ser dual, ruminal y mamario.

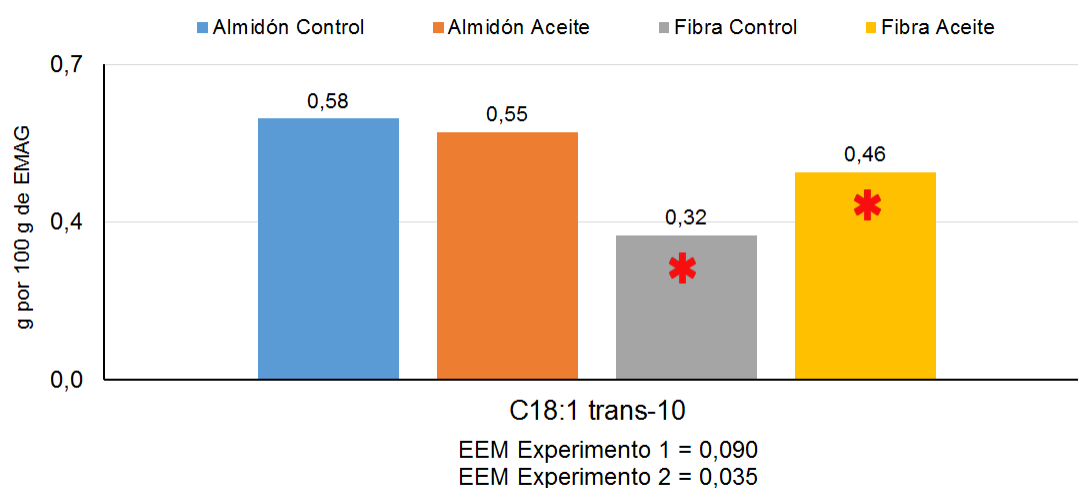


Figura 5.18. Contenido de C18:1 *trans*-10 en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). Dentro de un experimento (1 ó 2), el símbolo (*) indica diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los tratamientos. EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos. EEM: error estándar de la media.

Tanto C18:1 *trans*-9 como C18:1 *trans*-10 están relacionados preferentemente con la biohidrogenación ruminal de los ácidos oleico y linoleico (Shingfield y Wallace, 2014; Martínez Marín *et al.*, 2015b), pero solamente el contenido del segundo aumentó en la grasa láctea en respuesta al aceite de lino (**Tabla 5.6**, **Figura 5.18**) en el experimento 2. Este resultado unido a que el contenido de C18:1 *trans*-10 tendió a ser mayor en el tratamiento control del experimento 1 que en el del experimento 2 (**Figura 5.10**) indicaría que el aceite indujo cambios en la biohidrogenación de los ácidos oleico y linoleico en el experimento 2 que fueron similares a los que debieron ocurrir en el tratamiento control del experimento 1, simplemente por el mayor contenido de almidón en la ración, como se ha discutido en epígrafes anteriores. Es destacable que C18:1 *trans*-10 mostró una correlación positiva con C18:2 *trans*-10,*cis*-12 solamente en el experimento 1 ($r = 0,36$; $P < 0,05$). Este resultado podría interpretarse como que una parte importante del C18:1 *trans*-10 presente en la grasa láctea de dicho experimento se originó a partir de la biohidrogenación del ácido linoleico, vía C18:2 *trans*-10,*cis*-12 (Griinari y Bauman, 1999; McKain *et al.*, 2010), mientras

que el incremento del contenido de C18:1 *trans*-10 observado en el experimento 2 se debería principalmente a su mayor producción ruminal a partir del ácido oleico (Mosley *et al.*, 2002; AbuGhazaleh *et al.*, 2005).

Los ácidos grasos diinsaturados que se asocian específicamente con la biohidrogenación ruminal del ácido linoleico son ruménico, C18:2 *trans*-9,*cis*-11, C18:2 *trans*-10,*cis*-12 y C18:2 *trans*-9,*trans*-11, este último eluye junto a otros isómeros conjugados *trans-trans* (Martínez Marín *et al.*, 2015a). El ácido ruménico fue el único que incrementó su contenido en la grasa láctea de los tratamientos con aceite, siendo el aumento relativamente mayor en el experimento 2 (Tabla 5.8, Figura 5.19).

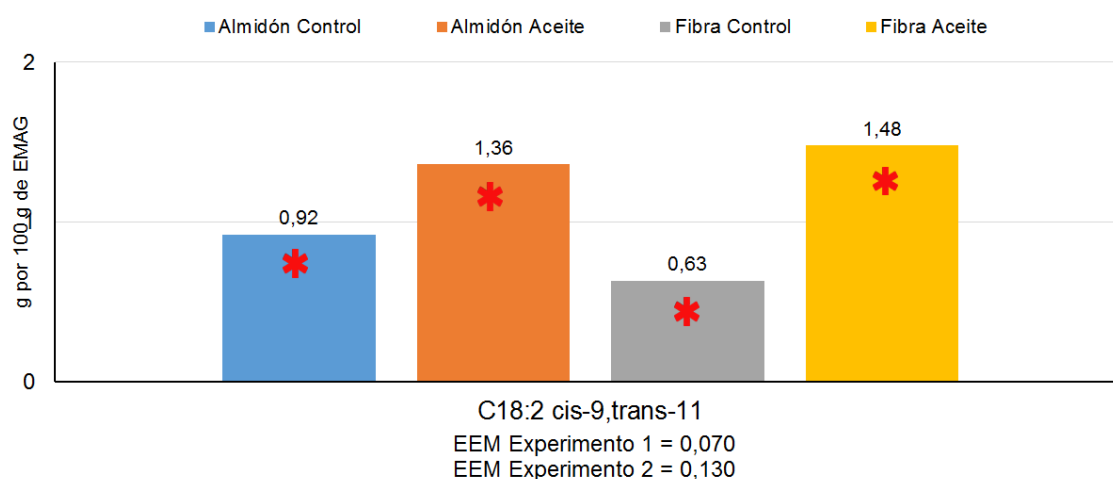


Figura 5.19. Contenido de ácido ruménico (C18:2 *cis*-9,*trans*-11) en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). Dentro de un experimento (1 ó 2), el símbolo (*) indica diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los tratamientos. EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos. EEM: error estándar de la media.

Excepto por los resultados de pruebas *in vitro* obtenidos por Lee y Jenkins (2011), es generalmente aceptado que el ácido ruménico no es un intermediario en la biohidrogenación ruminal del ácido α -linolénico. En el presente trabajo, el

incremento del contenido de ácido ruménico en la grasa láctea en respuesta al consumo de aceite de lino se debió fundamentalmente a la mayor disponibilidad de ácido vaccénico -producido en la biohidrogenación ruminal de los ácidos linoleico y α -linolénico y absorbido en intestino delgado- que sirvió de sustrato a la enzima esteroil-CoA desaturasa de la glándula mamaria para la Δ -9 desaturación (Griinari y Bauman, 1999; Shingfield y Wallace, 2014). Es bien conocido que la relación entre los contenidos de ambos ácidos grasos en la grasa láctea es estrictamente lineal, lo que indica que la Δ -9 desaturación del ácido vaccénico es la principal fuente del ácido ruménico presente en la leche (Bernard *et al.*, 2013). Para cuantificar el grado de Δ -9 desaturación del ácido vaccénico y calcular la fracción de ácido ruménico de origen tisular, Palmquist *et al.* (2004) propusieron un modelo de regresión lineal. Según este modelo, la fracción de ácido ruménico absorbido en intestino delgado que es captada por la glándula mamaria corresponde a la intersección de la ecuación de regresión, en tanto que el porcentaje de desaturación del ácido vaccénico se calcula a partir del coeficiente de regresión. De acuerdo con las ecuaciones obtenidas en el presente trabajo (**Figura 5.4**), el porcentaje de ácido vaccénico desaturado en la glándula mamaria fue 24% y 28% en los experimentos 1 y 2, respectivamente. Se calculó que las fracciones de ácido ruménico de origen ruminal y mamario en la grasa láctea fueron en promedio 29 y 71% en el experimento 1, y 18 y 82% en el experimento 2. Los porcentajes de desaturación del ácido vaccénico (24 y 28%) fueron relativamente próximos a valor observado (32%) en estudios realizados en cabras con isótopos radioactivos (Bernard *et al.*, 2010) e igual al promedio obtenido por Cívico *et al.* (2016) al comparar tratamientos control y con aceite de lino de experimentos previos de su grupo. Los dos autores anteriores reportaron que un 63-73% del ácido ruménico de la grasa láctea procede del ácido vaccénico en cabras. En el presente trabajo, los valores estuvieron comprendidos entre un 65% en el tratamiento control del experimento 1 y un 86% en el tratamiento con aceite del experimento 2, con un valor promedio de 75% (**Figura 5.20**). El hecho de que la fracción de ácido ruménico de origen mamario tuviera un valor más elevado en los tratamientos del experimento 2 indicaría que la producción ruminal de ácido

vaccénico fue mayor en dichos tratamientos que en los del experimento 1, en coincidencia con Santos-Silva *et al.* (2016). El valor del índice de Δ -9 desaturación del ácido vaccénico disminuyó por la inclusión de aceite en ambos experimentos (**Tabla 5.4**), lo que indicaría que la glándula mamaria no respondió al aumento de la disponibilidad de ácido vaccénico, derivado de la mayor cantidad de sustrato para la biohidrogenación ruminal en dichos tratamientos, con un aumento proporcional de la Δ -9 desaturación.

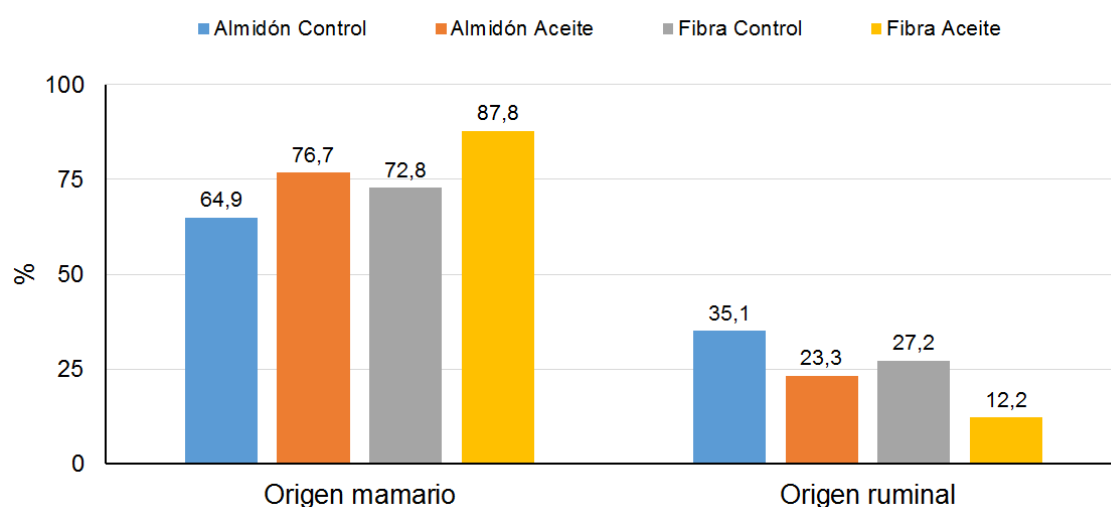


Figura 5.20. Origen del ácido ruménico (C18:2 *cis*-9,*trans*-11) en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). Origen mamario: procedente de la Δ -9 desaturación del ácido vaccénico (C18:1 *trans*-11) en la glándula mamaria. Origen ruminal: ácido ruménico absorbido en intestino delgado y captado preformado por la glándula mamaria. Valores promedio calculados a partir de las ecuaciones recogidas en la Figura 5.4.

Los contenidos de una variedad de ácidos grasos mono, di y triinsaturados con un doble enlace en las posiciones 13 a 16 mostraron respuestas positivas al aceite de lino en ambos experimentos (**Tablas 5.6, 5.8 y 5.9**), en coincidencia con lo reportado en trabajos previos en los que se incluyó semilla o aceite de lino en la dieta de los rumiantes lecheros (Akraim *et al.*, 2007; Gómez Cortés *et al.*, 2009a; Martínez Marín *et al.*, 2011a).

Resultados obtenidos *in vitro* (Jouany *et al.*, 2007; Wasowska *et al.*, 2006) y el estudio de datos obtenidos *in vivo* (Martínez Marín *et al.*, 2015a) indican que estos ácidos grasos se relacionan con la biohidrogenación ruminal del ácido α -linolénico y se han agrupado tentativamente de acuerdo con ciertas vías de metabolismo bacteriano (Collomb *et al.*, 2004; Destailats *et al.*, 2005, Gómez Cortés *et al.*, 2009b; Alves y Bessa, 2014). Sin embargo, el origen mamario de algunos ácidos grasos con dobles enlaces en posición *cis*-9 no se puede descartar (Martínez Marín *et al.*, 2012; Lerch *et al.*, 2012). El grupo de ácidos grasos C18:3 *cis*-9,*trans*-11,*cis*-15, C18:2 *trans*-11,*cis*-15 y C18:1 *cis*-15 corresponde a una ruta de biohidrogenación bien conocida que fue propuesta por Harfoot y Hazlewood (1997) (**Figura 2.3**). Teóricamente, C18:3 *cis*-9,*trans*-11,*cis*-15 podría ser el resultado de la Δ -9 desaturación de C18:2 *trans*-11,*cis*-15 en la glándula mamaria, pero este origen fue improbable en el presente trabajo porque el contenido de dicho ácido graso fue mayor en la grasa láctea de los tratamientos con aceite de ambos experimentos y el índice de Δ -9 desaturación fue menor en dichos tratamientos (**Tabla 5.4**). Este resultado está en coincidencia con lo observado por Lerch *et al.* (2012) en vacas y Martínez Marín *et al.* (2012) en cabras. De hecho, la producción de C18:3 *cis*-9,*trans*-11,*cis*-15 se ha observado en la biohidrogenación del ácido α -linolénico *in vitro* (Wasowska *et al.*, 2006) y ha sido identificado y cuantificado en el contenido duodenal y el plasma de vacas cuya dieta incluyó aceite de lino y semilla de lino, respectivamente (Loor *et al.*, 2005; Akraim *et al.*, 2007). El grupo de ácidos grasos C18:3 *cis*-9,*trans*-11,*trans*-15, C18:2 *trans*-11,*trans*-15 y C18:1 *trans*-15 (los dos últimos no identificados en nuestro trabajo) corresponde a una ruta de biohidrogenación propuesta por Gómez Cortés *et al.* (2009b). Los resultados de Lerch *et al.* (2012) en vacas y Martínez Marín *et al.* (2012) en cabras y la aparente ausencia de C18:3 *cis*-9,*trans*-11,*trans*-15 en los contenidos digestivos y el plasma sanguíneo (Loor *et al.*, 2005; Akraim *et al.*, 2007) o los productos de la biohidrogenación *in vitro* del ácido α -linolénico (Wasowska *et al.*, 2006) parecen indicar que el origen de este ácido graso es predominantemente mamario a partir de la Δ -9 desaturación de C18:2 *trans*-11,*trans*-15. Otros posibles sustratos diinsaturados para la Δ -9 desaturación en la glándula

mamaria que derivan de la biohidrogenación del ácido α -linolénico son C18:2 *trans*-11,*trans*-13 (Lerch *et al.*, 2012) y C18:2 *trans*-13,*cis*-15 (Destailats *et al.*, 2005), pero sus productos C18:3 *cis*-9,*trans*-11,*trans*-13 y C18:3 *cis*-9,*trans*-13,*cis*-15 no fueron detectados en el presente trabajo. El ácido C18:1 *cis*-15 es el producto final de varias posibles vías de biohidrogenación del ácido α -linolénico (Shingfield y Wallace, 2014) y, teóricamente, podría servir de sustrato para la Δ -9 desaturación en la glándula mamaria, resultando en C18:2 *cis*-9,*cis*-15. Los contenidos de ambos ácidos grasos mostraron respuestas positivas a la inclusión de aceite de lino en las raciones de los experimentos 1 y 2 (**Tablas 5.6 y 5.8**), pero el índice de Δ -9 desaturación de C18:1 *cis*-15 se redujo en ambos casos (**Tabla 5.4**), indicando que el origen de C18:2 *cis*-9,*cis*-15 fue probablemente tanto ruminal como mamario. En este sentido, C18:2 *cis*-9,*cis*-15 se ha encontrado en la biohidrogenación *in vitro* del ácido α -linolénico (Jouany *et al.*, 2007), pero no se ha reportado en los contenidos duodenales o el plasma sanguíneo de vacas que consumieron raciones enriquecidas en dicho ácido graso (Loor *et al.*, 2005; Flachowsky *et al.*, 2006; Akraim *et al.*, 2007).

El contenido del ácido C18:2 *trans*-10,*cis*-15 en la grasa láctea aumentó en respuesta a la inclusión de aceite de lino en ambos experimentos (**Tabla 5.8**). Griinari y Bauman (1999) postularon que, en condiciones ruminales alteradas por efecto de las características de la ración, se produciría la biohidrogenación del ácido α -linolénico a través de una ruta que incluiría C18:3 *trans*-10,*cis*-12,*cis*-15, C18:2 *trans*-10,*cis*-15 y C18:1 *trans*-10 como productos intermediarios. Zened *et al.* (2011) no identificaron C18:3 *trans*-10,*cis*-12,*cis*-15 ni C18:2 *trans*-10,*cis*-15 como productos de la biohidrogenación *in vitro* del ácido α -linolénico, aún en presencia de una elevada cantidad de almidón para favorecer las condiciones propias de un ambiente ruminal alterado. Honkanen *et al.* (2016) encontraron *trans*-10 *cis*-15 C18:2 en extractos ruminales bovinos incubados con ácido α -linolénico, pero no detectaron los ácidos grasos intermediarios propuestos por Griinari y Bauman (1999). Alves y Bessa (2014) encontraron por primera vez C18:2 *trans*-10,*cis*-15 en los contenidos digestivos y la carne de corderos alimentados con aceite de lino y en la carne de terneros

alimentados con semilla de lino. Turner *et al.* (2015) y De la Fuente *et al.* (2015) lo identificaron en la grasa perirrenal de terneros cuya ración incluyó semilla de lino y en la grasa láctea de ovejas que consumieron una ración con aceite de lino, respectivamente. Hasta donde sabemos, el presente trabajo reporta por primera vez la presencia de C18:2 *trans*-10,*cis*-15 en la grasa láctea de cabras, así como la variación de su contenido en respuesta a cambios en la ración suministrada a los animales. Por otra parte, parece que la producción de C18:1 *trans*-10 desde C18:2 *trans*-10,*cis*-15 es menos favorable que desde C18:2 *trans*-10,*cis*-12 porque la relación C18:1 *trans*-10/C18:2 *trans*-10,*cis*-12 no se afectó por la inclusión de aceite en la ración, mientras que la relación C18:1 *trans*-10/C18:2 *trans*-10,*cis*-15 se redujo marcadamente en ambos experimentos (**Tabla 5.8, Figura 5.21**). Estas observaciones concuerdan con los resultados de trabajos previos que indican que la biohidrogenación del aceite de lino y del ácido α -linolénico no favorece la producción de C18:1 *trans*-10 y C18:2 *trans*-10,*cis*-12, con independencia de las condiciones del medio ruminal (Loor *et al.*, 2005; Flachowsky *et al.*, 2006; Zened *et al.*, 2011).

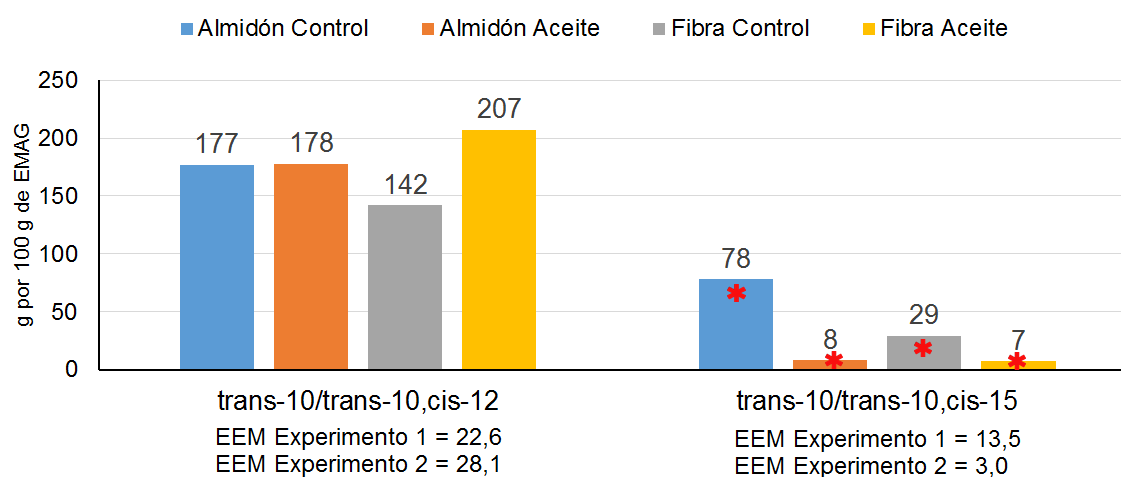


Figura 5.21. Relación entre los contenidos de los ácidos C18:1 *trans*-10 y C18:2 *trans*-10,*cis*-12 y C18:2 *trans*-10,*cis*-15 en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). Dentro de un experimento (1 ó 2), el símbolo (*) indica diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los tratamientos. EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos. EEM: error estándar de la media.

Otros ácidos grasos insaturados

Además del ácido palmitoleico, se identificaron numerosos C16:1 *cis* y *trans* cuyos contenidos en la grasa láctea respondieron positivamente a la adición de aceite de lino a la ración en ambos experimentos (**Tabla 5.7**). Estos resultados concuerdan con las observaciones de Kazama *et al.* (2010) y Saliba *et al.* (2014) en vacas cuya ración incluyó aceite de lino. La presencia de dichos ácidos grasos en la grasa láctea no es fácil de explicar porque habitualmente la ración de los rumiantes no contiene cantidades relevantes de C16:1 *cis* susceptibles de ser modificados por los microorganismos ruminales. Los pocos trabajos de investigación que han examinado en detalle el origen de estos ácidos grasos en la grasa láctea (Destailats *et al.*, 2000; Luna *et al.*, 2009) señalan que el origen podría ser tanto ruminal, a partir de C16:2 y C16:3, como endógeno por β -oxidación de los análogos C18:1. Wood (1979) sugirió que el incremento de los contenidos tisulares de C16:1 *trans* observado en los tejidos de ratas podría deberse a un acortamiento metabólico de los análogos C18:1 *trans*. A partir de los resultados obtenidos en ovejas que consumieron diversas fuentes de grasa, Luna *et al.* (2009) señalaron que la β -oxidación de C18:1 *trans*-11 y C18:1 *trans*-10 tendría como productos a C16:1 *trans*-9 y C16:1 *trans*-8, respectivamente (ambos identificados en el presente trabajo) lo que justificaría plausiblemente las variaciones observadas de los contenidos de los segundos en la grasa láctea que observaron en su trabajo. Por otra parte, Kadegowda *et al.* (2013) demostraron en cultivos de adipocitos bovinos que C16:1 *trans*-9 puede ser elongado a C18:1 *trans*-11. Por tanto, estos trabajos (Luna *et al.*, 2009; Kadegowda *et al.*, 2013) sugieren que C16:1 *trans*-9 puede ser tanto producto como sustrato del metabolismo del ácido vaccénico. Respecto al origen ruminal, los resultados de Shingfield *et al.* (2010b), Toral *et al.* (2010) y Shingfield *et al.* (2012) indicaron que la presencia de varios C16:1 *cis* y *trans* en los contenidos digestivos se relacionaría con la biohidrogenación ruminal de C16:2 *cis*-9,*cis*-12 (ácido palmitolinoleico), C16:3 *cis*-6,*cis*-9,*cis*-12, C16:4 *cis*-6,*cis*-9,*cis*-12,*cis*-15 o C16:4 *cis*-4,*cis*-7,*cis*-10,*cis*-13. Ninguno de los ácidos grasos mencionados fue identificado en el aceite de lino utilizado en

nuestro trabajo (**Tabla 4.2**). El análisis univariado del conjunto de datos obtenidos en los trabajos de Martínez Marín *et al.* (2011a, 2012, 2013c) demostró que el contenido de C16:2 (sin especificación de las posiciones de los dobles enlaces) es significativamente mayor en los tratamientos con aceite de lino que en los controles sin aceite o en los tratamientos con aceite de girasol alto oleico o girasol normal (Martínez Marín *et al.*, sin publicar). Los datos obtenidos en el presente trabajo apoyan la relación entre el consumo de aceite de lino y la presencia de C16:2 y también de C16:1 *trans*-9 (el C16:1 cuantitativamente más relevante tras C16:1 *cis*-9) en la grasa láctea (**Tablas 5.7 y 5.9, Figura 5.22**).

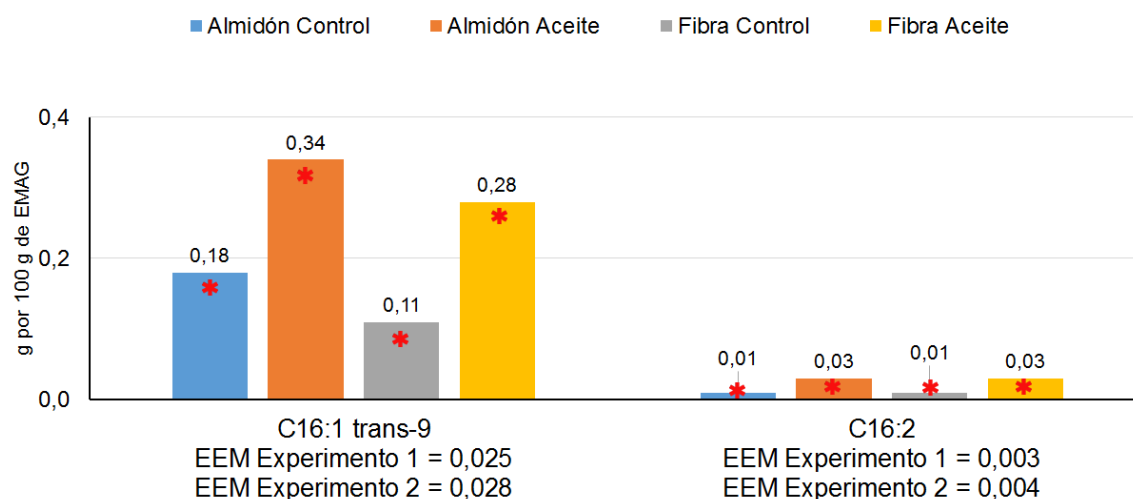


Figura 5.22. Contenido de los ácidos C16:1 *trans*-9 y C16:2 en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). Dentro de un experimento (1 ó 2), el símbolo (*) indica diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los tratamientos. EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos. EEM: error estándar de la media.

Cabe señalar que los resultados de Luna *et al.* (2009) y Bernard *et al.* (2009c) indican que el contenido de C16:1 *trans*-9 en la grasa láctea aumenta en respuesta tanto a los aceites de girasol o soja como de lino, y que, de acuerdo con las observaciones de Ollier *et al.* (2009), Bernard *et al.* (2012) y Saliba *et al.* (2014), dicha respuesta estaría modulada por el nivel de forraje y las características del concentrado incluido en la ración. Además, el paso del aceite

por el rumen parece ser necesario para el aumento de los contenidos (Kazama *et al.*, 2010; Côrtes *et al.*, 2011).

Los trabajos que han estudiado los ácidos grasos presentes en los contenidos digestivos, en respuesta al consumo de semilla o aceite de lino (Shen *et al.*, 2011; Sterk *et al.*, 2012), o en bacterias ruminales (Vlaeminck *et al.*, 2006b; Bessa *et al.*, 2009) no han reportado C16:2 ni C16:1 *trans*-9. Igualmente, la información acerca del origen de C16:2 en la grasa láctea es muy escasa, pero Martínez Marín *et al.* (2013a) observaron que cabras con el reflejo de la gotera esofágica funcional que consumieron aceite de lino en biberón, evitando su paso por el rumen, solamente mostraron trazas de C16:2 en la grasa láctea, en tanto que las que consumieron aceite de lino en el pienso tuvieron contenidos de C16:2 mayores que las muestras control de referencia. En definitiva, nuestros resultados, apoyados por la bibliografía, indican que existe una relación directa entre los ácidos grasos aportados por el aceite de lino y los contenidos de C16:2 y C16:1 *trans*-9 en la grasa láctea. Esta relación parece estar mediada, al menos en lo referido a C16:2, por la acción de las bacterias ruminales sobre el aceite de lino.

Los ácidos linoleico y α -linolénico mostraron respuestas comunes en ambos experimentos (**Figura 5.23**). Los tratamientos con aceite no resultaron en un incremento del contenido de ácido linoleico en la grasa láctea en ninguno de los experimentos (**Tabla 5.8**), a pesar de que las raciones supusieron un aumento del aporte diario de dicho ácido graso (**Figura 5.2**). Por el contrario, el contenido de ácido α -linolénico en la grasa láctea se incrementó en los tratamientos con aceite de ambos experimentos (**Tabla 5.9**), lo que en virtud de la ausencia de cambios observada en el contenido del ácido linoleico supuso una reducción del valor de la relación entre los contenidos de los ácidos grasos n-6 y n-3 (**Tabla 5.2**). Martínez Marín *et al.* (2013e) señalaron que la inclusión de grasa de lino en la ración ocasiona, por término medio, una respuesta negativa del contenido de ácido linoleico y un aumento del contenido de ácido α -linolénico en la grasa láctea en cabras, así como en ovejas y vacas. Esta respuesta podría deberse a

una competencia de los ácidos linoleico y α -linolénico aportados por la grasa de lino por los sitios de esterificación en el glicerol (Chilliard y Ferlay, 2004). Este fenómeno es ventajoso cuando se busca reducir el valor de la relación entre los contenidos de los ácidos grasos n-6 y n-3 mediante la modificación de la composición de la ración. El análisis univariado de los datos mostró que el contenido de ácido α -linolénico fue mayor en la grasa láctea del tratamiento con aceite del experimento 2, mientras que no hubo diferencias entre los tratamientos control de ambos experimentos. Estos resultados están en desacuerdo con Loores *et al.* (2004), quienes observaron en vacas que la grasa láctea tuvo mayor contenido de ácido α -linolénico cuando se adicionó aceite de lino a una ración rica en concentrado que a una rica en forraje. Sin embargo, Serment *et al.* (2011) encontraron que el contenido de ácido α -linolénico en la grasa láctea de cabras alimentadas con una ración rica en forraje tendió a ser mayor en comparación con las que recibieron una ración rica en concentrado, a pesar de que esta última aportó mayor cantidad de ácido α -linolénico a los animales. En el mismo sentido, Chilliard y Ferlay (2004) señalaron que la respuesta del contenido del ácido α -linolénico en la grasa láctea de cabras parece estar favorecido por la utilización de heno como forraje y por una proporción de forraje media-alta en la ración, lo que indicaría un efecto positivo del contenido de fibra neutro detergente de la ración en concordancia con nuestros resultados.

La transferencia aparente de los ácidos linoleico y α -linolénico desde la ración a la leche se redujo significativa o numéricamente en los tratamientos con aceite de ambos experimentos (**Tabla 5.10**), lo que coincide con los resultados de Bernard *et al.* (2009a, 2009b) quienes reportaron valores de transferencia similares a los observados en nuestro trabajo. En un metaanálisis de datos obtenidos en vacas que no consumieron suplementos grasos, Khiaosa-ard *et al.* (2015) encontraron que la transferencia aparente de estos ácidos grasos disminuye de una forma no lineal al aumentar su porcentaje en la ración, pero que la transferencia es constante y permanece en valores en torno a 10 y 5% cuando el porcentaje de los ácidos linoleico y α -linolénico en la ración es

superior a 0,8% y 0,2%, respectivamente. Estos valores son muy similares a los de los tratamientos sin aceite de nuestro trabajo. Ello sugiere, de acuerdo con Khiaosa-ard *et al.* (2015), que la reducción de los valores de transferencia observados en los tratamientos con aceite podría deberse a la existencia de un límite fisiológico a la incorporación de C18 poliinsaturados a la grasa láctea. Los resultados de Kazama *et al.* (2010), Côrtes *et al.* (2011) y Martínez Marín *et al.* (2013a) indican que dicho límite vendría impuesto por el metabolismo ruminal de los ácidos grasos insaturados más que por la capacidad de la glándula mamaria.

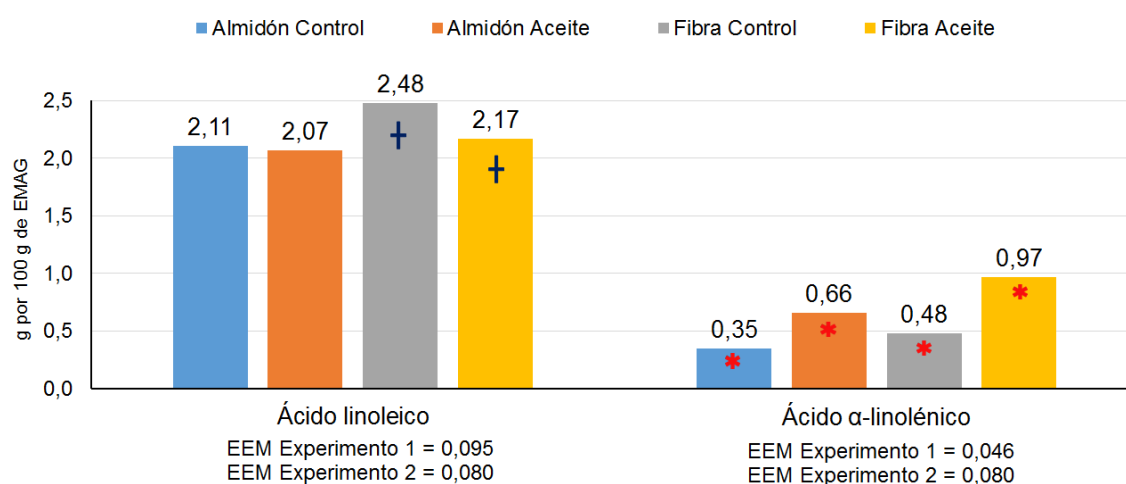


Figura 5.23. Contenido de los ácidos linoleico y α -linolénico en la grasa láctea de cabras cuya ración incluyó un concentrado rico en almidón (Almidón, Experimento 1) o fibra neutro detergente (Fibra, Experimento 2), sin aceite (Control) o con aceite de lino (Aceite). Dentro de un experimento (1 ó 2) Los símbolos (*) y (†) indican diferencias significativas ($P < 0,05$) y tendencia a la diferencia ($P < 0,10$), respectivamente, entre los tratamientos EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos. EEM: error estándar de la media.

En el presente trabajo se identificaron cuatro C18:3 n-3 además del ácido α -linolénico en el aceite de lino suministrado a los animales (Tabla 4.2). Los contenidos de dos de ellos, C18:3 *cis*-9,*trans*-12,*cis*-15 y C18:3 *trans*-9,*cis*-12,*cis*-15, se incrementaron en la grasa láctea de los tratamientos con aceite de ambos experimentos (Tabla 5.9), lo que sugiere un probable origen dietético

más que ruminal. Looor *et al.* (2004) observaron incrementos de C18:3 *cis*-9,*trans*-12,*cis*-15, C18:3 *cis*-9,*trans*-12,*trans*-15 y C18:3 *trans*-9,*trans*-12,*trans*-15 en el contenido duodenal de vacas cuya ración incluyó aceite de lino. Como estos autores no reportaron el perfil detallado de los C18:3 n-3 del aceite de lino que utilizaron, no puede excluirse que dichos ácidos grasos también fueran de origen dietético en su trabajo.

5.2.2.3. Implicaciones de los resultados obtenidos para las cualidades saludables de la grasa láctea

Los resultados de este estudio indican que la inclusión de aceite de lino en la ración tuvo efectos favorables sobre la grasa láctea de las cabras desde el punto de vista de la salud humana. En primer lugar, la presencia de aceite de lino en la ración disminuyó los contenidos de los ácidos láurico, mirístico y palmítico, que están implicados en el aumento del índice de aterogenicidad y se consideran desfavorables desde un punto de vista nutricional (Ulbricht y Southgate, 1991; Astrup *et al.*, 2011). La ausencia de efectos negativos sobre los contenidos de los ácidos butírico, caproico, caprílico y C15:0 iso, así como el mantenimiento de los niveles de los ácidos esteárico y oleico, es también destacable (**Tablas 5.3, 5.5 y 5.6**). La grasa láctea es la única grasa natural que aporta cantidades relevantes de ácido butírico y otros ácidos grasos de cadena corta, además de ácidos grasos impares y ramificados. El ácido butírico tiene propiedades antitumorales y los ácidos grasos saturados de cadena corta pueden actuar como reguladores metabólicos (Watkins *et al.*, 1999; Parodi, 2006). Estudios realizados *in vitro* e *in vivo* han mostrado que C15:0 iso inhibe el crecimiento de varias líneas de células tumorales (Yang *et al.*, 2000; Wongtangtintharn *et al.*, 2004; Cai *et al.*, 2013). El consumo de cantidades moderadas de los ácidos esteárico y oleico se considera neutro en cuanto al riesgo de enfermedad cardiovascular (Kris-Etherton *et al.*, 2005; Baum *et al.*, 2012).

El aceite de lino incrementó los contenidos de numerosos ácidos grasos intermediarios de la biohidrogenación ruminal en la grasa láctea a los que se atribuyen efectos favorables sobre la salud humana, pero no modificó el contenido de C18:1 *trans*-10 (**Tablas 5.6 y 5.8**), cuyo consumo se considera perjudicial (Hodgson *et al.*, 1996; Roy *et al.*, 2007). En este grupo, los ácidos vaccénico y ruménico destacan por su actividad antitumoral (Benjamin y Spener, 2009; Field *et al.*, 2009; Lim *et al.*, 2014). Además, el ácido vaccénico puede contribuir a la disponibilidad de ácido ruménico en el organismo por Δ -9 desaturación (Turpeinen *et al.*, 2002). La principal fuente de C16:1 *trans*-9 en la dieta humana son los productos lácteos. A este ácido graso se le atribuyen efectos favorables sobre la salud humana (Mozaffarian *et al.*, 2010; Smit *et al.*, 2010; Mozaffarian *et al.*, 2013). Estos efectos podrían deberse a su estructura, aunque es más probable que se deban a su elongación en el organismo a C18:1 *trans*-11, que ha sido demostrada en adipocitos bovinos por Kadegowda *et al.* (2013), y su posterior desaturación a C18:2 *cis*-9,*trans*-11 (Turpeinen *et al.*, 2002). Finalmente, a partir de los resultados de estudios *in vitro*, se cree que el ácido C18:3 *cis*-9,*trans*-11,*cis*-15 podría tener un efecto antiobesidad (Miranda *et al.*, 2011). Este y otros isómeros conjugados del ácido α -linolénico podrían tener un efecto antitumoral más potente incluso que el del ácido ruménico (Degen *et al.*, 2011; Hennesy *et al.*, 2011).

Los cambios en los contenidos de los diferentes grupos de ácidos grasos de la grasa láctea causados por la inclusión de aceite de lino en la ración resultaron en un aumento de los ácidos grasos n-3, la disminución de los valores del índice de aterogenicidad y de la relación entre los ácidos grasos n-6 y n-3 (**Tabla 5.2**). La grasa con un elevado índice de aterogenicidad se considera indeseable desde el punto de vista de la salud humana (Ulbricht y Southgate, 1991). Los valores de la relación n-6/n-3 observados en todos los tratamientos estuvieron en torno a 4, que es valor recomendado en la grasa consumida (Simopoulos, 2008). En el caso de las raciones con aceite de lino, este índice descendió hasta 2, lo que convierte a la grasa láctea de dichos tratamientos en la más favorable desde el punto de vista de la salud humana.

En resumen, se observaron efectos específicos de las características del concentrado de la ración suministrada a los animales sobre el perfil de ácidos grasos de la leche. Igualmente, se encontraron diferencias debidas a la adición de aceite de lino a la ración, así como una modulación de la magnitud de la respuesta al aceite en función del tipo de concentrado. Los cambios observados permitieron inferir los posibles efectos de las raciones sobre el ambiente ruminal. Las respuestas de los ácidos grasos al aceite de lino fueron generalmente beneficiosas desde el punto de vista de las cualidades saludables de la grasa láctea.

5.3. EXPERIMENTOS 3 Y 4

5.3.1. Resultados

En cuanto al comportamiento ingestivo tras el cambio de la ración, los animales mostraron las mismas pautas de consumo que en los días previos, de forma que el peso de los residuos fue alrededor del 10% de la ración ofrecida y fueron homogéneos en su contenido de forraje y concentrado.

Se cuantificaron los mismos 110 ácidos grasos en la grasa láctea que en los experimentos 1 y 2. En las **Tablas 5.14 a 5.31**, se muestran los contenidos de los grupos de ácidos grasos y los ácidos grasos individuales entre 1 y 24 horas tras el cambio de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (tratamiento control-aceite) y viceversa (tratamiento aceite-control), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (experimento 3) o en fibra neutro detergente (experimento 4). La hora 0 en las tablas representa el contenido del ácido graso en particular en el ordeño previo al cambio de la ración tras 25 días de adaptación a la misma. En cada tabla, se muestran las diferencias significativas entre los tratamientos dentro de cada hora. También se muestran las diferencias significativas de los contenidos observados en las muestras recogidas entre las horas 1 y 24 respecto a los de la muestra recogida a la hora 0, dentro de cada tratamiento. En virtud del diseño experimental, los contenidos de los ácidos grasos y las diferencias entre tratamientos observadas a la hora 0 en los experimentos 3 y 4 son coincidentes con los de los experimentos 1 y 2, respectivamente. En general, cuando hubo diferencias significativas entre tratamientos a la hora 0, los contenidos de los ácidos grasos dentro de cada tratamiento mostraron tendencias opuestas con el paso de las horas respecto al valor observado en aquella. Estas tendencias fueron generalmente comunes, aunque más o menos claras, entre experimentos. Los contenidos de algunos ácidos grasos que no fueron significativamente diferentes entre tratamientos a la hora 0 mostraron cambios significativos a tiempos puntuales dentro de cada

tratamiento, sin una tendencia definida. No se hará más hincapié en estos resultados y no serán objeto de discusión posterior.

Los grupos de ácidos grasos cuyos contenidos en la grasa láctea no difirieron ($P > 0,05$) a la hora 0 en ambos experimentos fueron los ramificados no terminales, los C18:1 *cis* y los monoinsaturados *cis* totales (**Tablas 5.14 y 5.15**). Los contenidos de los ácidos grasos saturados iso y anteiso en el experimento 3 y los de los saturados lineales impares en el experimento 4 no mostraron diferencias ($P > 0,05$) a la hora 0. Los contenidos de los ácidos grasos saturados lineales pares y saturados totales en los experimentos 3 y 4 y los iso en el experimento 4 fueron mayores ($P < 0,05$) en el tratamiento control-aceite que en el aceite-control a la hora 0. Por el contrario, los contenidos de los C18:1 *trans*, los monoinsaturados *trans* totales, los monoinsaturados totales y todos los grupos de poliinsaturados en ambos experimentos y el de los saturados lineales impares en el experimento 3 fueron mayores en el tratamiento aceite-control a la hora 0.

Transcurridas 24 horas tras el cambio de la ración control a la ración con aceite de lino, se observó una reducción ($P < 0,05$) de los contenidos de los ácidos grasos saturados lineales impares en la grasa láctea y un aumento ($P < 0,05$) de los C18:1 *trans*, monoinsaturados *trans* totales, C18:2 no conjugados y conjugados, C18:3 totales y poliinsaturados totales, en el experimento 3 (Tablas 5.14 y 5.15). En el experimento 4, se observaron los mismos cambios y además disminuyeron ($P < 0,05$) los contenidos de los ácidos grasos saturados lineales pares, los iso, los anteiso y los saturados totales, y aumentó ($P < 0,05$) el contenido de los monoinsaturados totales. La mayoría de los cambios mencionados ocurrieron a las 24 horas en el experimento 3, mientras que la tendencia creciente o decreciente fue aparente, por lo general, a las 12 horas en el experimento 4.

Tabla 5.14. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los principales grupos de ácidos grasos en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3). EEM: error estándar de la media.

		Hora						EEM
Tratamiento		0	1	3	6	12	24	
Saturados								
Lineales pares	C-A	70,03 ^a	68,70 ^a	67,56 ^{Ba}	71,81 ^a	71,43	68,86	0,465
	A-C	65,18 ^b	63,80 ^b	63,20 ^b	68,74 ^{Ab}	71,59 ^A	69,11 ^A	
Lineales impares	C-A	1,40 ^b	1,44	1,50 ^A	1,42 ^b	1,36 ^b	1,30 ^{Bb}	0,026
	A-C	1,70 ^a	1,68	1,76	1,83 ^{Aa}	1,76 ^a	1,75 ^a	
Iso	C-A	0,61	0,61	0,64	0,57 ^B	0,52 ^B	0,54 ^B	0,013
	A-C	0,58	0,61	0,63 ^A	0,54 ^B	0,50 ^B	0,60	
Anteiso	C-A	0,48	0,52	0,54 ^A	0,47	0,41 ^B	0,43 ^B	0,011
	A-C	0,52	0,51	0,52	0,44 ^B	0,43 ^B	0,54	
Otros ramificados	C-A	0,10	0,09	0,09	0,11 ^b	0,10	0,09	0,004
	A-C	0,11	0,09	0,12	0,16 ^{Aa}	0,13 ^A	0,09	
Total	C-A	72,62 ^a	71,36 ^a	70,33 ^{Ba}	74,38 ^a	73,82	71,22	0,456
	A-C	68,06 ^b	66,69 ^b	66,23 ^b	71,71 ^{Ab}	74,41 ^A	72,09 ^A	
Monoinsaturados								
C18:1 <i>cis</i>	C-A	16,86	18,01	19,10	15,97	15,17	16,42	0,444
	A-C	17,60	18,55	19,05	16,60	14,83	16,53	
C18:1 <i>trans</i>	C-A	3,61 ^b	3,59 ^b	3,39 ^b	2,80 ^{Bb}	3,67	4,91 ^A	0,144
	A-C	5,72 ^a	5,86 ^a	5,32 ^{Ba}	4,22 ^{Ba}	4,00 ^B	4,07 ^B	
Total <i>cis</i>	C-A	18,81	20,00	21,19 ^A	18,01	17,08 ^B	18,12	0,443
	A-C	19,25	20,26	20,85 ^A	18,35	16,58 ^B	18,40	
Total <i>trans</i>	C-A	4,00 ^b	4,00 ^b	3,81 ^b	3,18 ^{Bb}	4,07	5,38 ^A	0,154
	A-C	6,31 ^a	6,44 ^a	5,88 ^{Ba}	4,73 ^{Ba}	4,50 ^B	4,58 ^B	
Total	C-A	22,81 ^b	24,02 ^b	25,02 ^{Ab}	21,22 ^b	21,18	23,52	0,417
	A-C	25,56 ^a	26,73 ^a	26,76 ^a	23,09 ^{Ba}	21,10 ^B	23,00 ^B	
Poliinsaturados								
C18:2 no conjugados	C-A	2,63 ^b	2,62 ^b	2,68 ^b	2,55	2,80	2,96 ^A	0,056
	A-C	3,46 ^a	3,41 ^a	3,40 ^a	2,94 ^B	2,75 ^B	2,76 ^B	
C18:2 conjugados	C-A	1,00 ^b	1,07 ^b	1,07 ^b	0,89	1,09	1,18 ^A	0,033
	A-C	1,44 ^a	1,58 ^a	1,60 ^a	1,21 ^B	1,13 ^B	1,13 ^B	
Total C18:3	C-A	0,47 ^b	0,47 ^b	0,45 ^b	0,53	0,67 ^A	0,73 ^A	0,022
	A-C	0,99 ^a	0,97 ^a	0,86 ^{Ba}	0,64 ^B	0,66 ^B	0,69 ^B	
Total	C-A	4,54 ^b	4,61 ^b	4,67 ^b	4,44	5,02 ^A	5,28 ^A	0,098
	A-C	6,28 ^a	6,37 ^a	6,31 ^a	5,24 ^B	5,00 ^B	5,01 ^B	

^{A,B}Para cada variable, dentro de un tratamiento, los superíndices indican que la media es significativamente ($P < 0,05$) mayor (A) o menor (B) que la media de la hora cero.

^{a,b}Para cada variable, dentro de una hora, las medias con superíndices distintos son significativamente ($P < 0,05$) diferentes entre tratamientos.

Tabla 5.15. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los principales grupos de ácidos grasos en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en fibra neutro detergente (Experimento 4). EEM: error estándar de la media.

		Hora						EEM
Tratamiento		0	1	3	6	12	24	
Saturados								
Lineales pares	C-A	70,52 ^a	69,16 ^a	68,98 ^a	71,79 ^a	68,89	68,82 ^B	0,433
	A-C	65,31 ^b	64,43 ^b	63,96 ^b	68,76 ^{Ab}	71,04 ^A	69,47 ^A	
Lineales impares	C-A	1,80	1,86	1,95	1,98	1,73	1,62 ^B	0,029
	A-C	1,69	1,72	1,70	1,74	1,69	1,75	
Iso	C-A	0,77 ^a	0,82	0,82	0,73	0,64 ^B	0,70 ^B	0,015
	A-C	0,68 ^b	0,74 ^A	0,73	0,65	0,62	0,71	
Anteiso	C-A	0,60 ^a	0,62	0,63	0,55	0,51 ^B	0,53 ^B	0,016
	A-C	0,52 ^b	0,57	0,56	0,47 ^B	0,46 ^B	0,58	
Otros ramificados	C-A	0,10	0,10	0,11	0,12 ^A	0,10	0,08 ^B	0,003
	A-C	0,10	0,09	0,10	0,13 ^A	0,10	0,08 ^B	
Total	C-A	73,84 ^a	72,56 ^a	72,49 ^a	75,07 ^{Aa}	72,87	70,59 ^B	0,424
	A-C	68,28 ^b	67,55 ^b	67,06 ^b	71,75 ^{Ab}	73,91 ^A	72,59 ^A	
Monoinsaturados								
C18:1 <i>cis</i>	C-A	16,40	17,26	17,56 ^A	15,61	15,10 ^B	16,48	0,364
	A-C	16,53	18,54 ^A	19,76 ^A	17,11	15,67	17,42	
C18:1 <i>trans</i>	C-A	2,40 ^b	2,47 ^b	2,31 ^b	1,98 ^b	3,24 ^A	4,60 ^{Aa}	0,163
	A-C	5,68 ^a	5,84 ^a	5,32 ^a	4,19 ^{Ba}	3,71 ^B	3,43 ^{Bb}	
Total <i>cis</i>	C-A	18,52	19,51	19,94 ^A	17,81	17,07 ^B	18,31	0,372
	A-C	18,37	20,25 ^A	21,65 ^A	19,01	17,54	19,40	
Total <i>trans</i>	C-A	2,73 ^b	2,83 ^b	2,67 ^b	2,32 ^b	3,61 ^A	5,00 ^{Aa}	0,171
	A-C	6,18 ^a	6,39 ^a	5,88 ^a	4,69 ^{Ba}	4,20 ^B	3,88 ^{Bb}	
Total	C-A	21,32 ^b	22,37 ^b	22,64 ^{Ab}	20,16 ^b	20,71	23,34 ^A	0,400
	A-C	24,56 ^a	26,67 ^{Aa}	27,56 ^{Aa}	23,73 ^a	21,77 ^B	23,31 ^B	
Poliinsaturados								
C18:2 no conjugados	C-A	2,94 ^b	3,04	2,95	2,65	3,27 ^A	3,35 ^A	0,066
	A-C	3,72 ^a	3,70	3,58	3,04 ^B	2,91 ^B	2,97 ^B	
C18:2 conjugados	C-A	0,69 ^b	0,76 ^b	0,74 ^b	0,66 ^b	0,85 ^A	0,99 ^A	0,046
	A-C	1,57 ^a	1,60 ^a	1,66 ^a	1,33 ^{Ba}	1,13 ^B	1,09 ^B	
Total C18:3	C-A	0,62 ^b	0,65 ^b	0,59 ^b	0,60 ^b	1,24 ^A	1,15 ^A	0,046
	A-C	1,42 ^a	1,39 ^a	1,20 ^a	0,94 ^{Ba}	0,89 ^B	0,84 ^B	
Total	C-A	4,76 ^b	4,95 ^b	4,80 ^b	4,44	5,83 ^A	5,95 ^A	0,139
	A-C	7,17 ^a	7,13 ^a	6,92 ^a	5,77 ^B	5,37 ^B	5,33 ^B	

^{A,B}Para cada variable, dentro de un tratamiento, los superíndices indican que la media es significativamente ($P < 0,05$) mayor (A) o menor (B) que la media de la hora cero.

^{a,b}Para cada variable, dentro de una hora, las medias con superíndices distintos son significativamente ($P < 0,05$) diferentes entre tratamientos.

El cambio de la ración con aceite de lino a la ración control aumentó ($P < 0,05$) los contenidos de los ácidos grasos saturados lineales pares y los totales, y disminuyó ($P < 0,05$) los contenidos de los C18:1 *trans*, monoinsaturados *trans* totales, monoinsaturados totales, C18:2 no conjugados y conjugados, C18:3 totales y poliinsaturados totales en la grasa láctea de ambos experimentos.

Los cambios ocurrieron a partir de 6 horas tras el cambio de la ración en la mayoría de los casos, y a partir de las 3 horas en el caso de los C18:1 *trans*, monoinsaturados *trans* totales y C18:3 totales en el experimento 3. En el experimento 4, los cambios temporales dentro de cada tratamiento ocasionaron que las diferencias observadas en la hora 0 en los contenidos de los C18:1 *trans* y los monoinsaturados *trans* totales se invirtieran en la hora 24, de forma que el que fue mayor a la hora 0 fue menor a la hora 24 y viceversa (**Tabla 5.15**).

En conjunto, los contenidos individuales de 62 y 64 ácidos grasos en la grasa láctea de los experimentos 3 y 4, respectivamente, mostraron diferencias entre los tratamientos a la hora 0. De estos, 48 en el experimento 3 y 55 en el experimento 4 mostraron cambios temporales ($P < 0,05$), en al menos uno de los tratamientos y en sentido creciente o decreciente, cuando el contenido a la hora 0 fue menor o mayor, respectivamente, que en el otro tratamiento. Finalmente, los contenidos de 12 ácidos grasos en el experimento 3 y 17 en el experimento 4 cambiaron transcurridas 24 horas hasta el punto de que las diferencias observadas entre tratamientos a la hora 0 se invirtieron a la hora 24.

A continuación se presentan los resultados referidos a los ácidos grasos individuales cuyos contenidos en la grasa láctea a la hora 0 fue significativamente diferente entre tratamientos en uno o en ambos experimentos.

Tabla 5.16. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos saturados lineales pares en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3). EEM: error estándar de la media.

	Tratamiento	Horas						EEM
		0	1	3	6	12	24	
C4:0	C-A	2,97	2,94	2,85	2,98	2,92	2,87	0,038
	A-C	3,03	3,16	3,11	3,05	3,05	3,00	
C6:0	C-A	3,17	3,10	3,02	3,17	3,06	2,99	0,031
	A-C	3,20	3,25	3,20	3,25	3,30	3,20	
C8:0	C-A	3,32	3,25	3,18	3,31	3,12 ^B	3,03 ^B	0,032
	A-C	3,39	3,39	3,36	3,46	3,50	3,40	
C10:0	C-A	11,04 ^a	10,63	10,34 ^B	11,42	11,15	10,55 ^{Bb}	0,132
	A-C	10,50 ^b	10,16	10,09	11,42 ^A	12,18 ^A	11,51 ^{Aa}	
C12:0	C-A	4,56 ^a	4,54 ^a	4,53 ^a	4,81	4,66	4,40	0,077
	A-C	4,11 ^b	4,07 ^b	4,08 ^b	4,37 ^A	4,81 ^A	4,86 ^A	
C14:0	C-A	10,01 ^a	10,07 ^a	9,94 ^a	10,62 ^{Aa}	10,35	9,47 ^B	0,102
	A-C	8,92 ^b	8,68 ^b	8,67 ^b	9,57 ^{Ab}	9,97 ^A	9,43 ^A	
C16:0	C-A	28,19 ^a	27,37 ^a	26,85 ^{Ba}	29,76 ^{Aa}	30,58 ^{Aa}	28,24 ^a	0,385
	A-C	23,91 ^b	22,83 ^{Bb}	22,71 ^{Bb}	26,47 ^{Ab}	28,51 ^{Ab}	26,37 ^{Ab}	
C18:0	C-A	6,57	6,59	6,62	5,54 ^B	5,40 ^B	7,10	0,210
	A-C	7,85	7,97	7,71	6,89 ^B	6,07 ^B	7,11 ^B	
C20:0	C-A	0,12	0,12	0,13	0,11 ^B	0,10 ^B	0,12	0,003
	A-C	0,14	0,15	0,15	0,13 ^B	0,12 ^B	0,14	
C22:0	C-A	0,03	0,03	0,03	0,03	0,02 ^B	0,02 ^B	0,001
	A-C	0,03	0,03	0,03	0,03	0,02 ^B	0,03	
C24:0	C-A	0,01	0,01 ^B	0,02	0,01	0,01	0,01	0,000
	A-C	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01 ^B	0,01	
C18:0 ceto-10	C-A	0,05 ^b	0,05	0,05	0,05	0,06 ^A	0,06 ^A	0,003
	A-C	0,08 ^a	0,08	0,08	0,07	0,05 ^B	0,05 ^B	

^{A,B}Para cada variable, dentro de un tratamiento, los superíndices indican que la media es significativamente ($P < 0,05$) mayor (A) o menor (B) que la media de la hora cero.

^{a,b}Para cada variable, dentro de una hora, las medias con superíndices distintos son significativamente ($P < 0,05$) diferentes entre tratamientos.

Tabla 5.17. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos saturados lineales pares en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en fibra neutro detergente (Experimento 4). EEM: error estándar de la media.

	Tratamiento	Horas						EEM
		0	1	3	6	12	24	
C4:0	C-A	2,66	2,64	2,66	2,70	2,79	2,70	0,025
	A-C	2,71	2,70	2,62	2,72	2,78	2,76	
C6:0	C-A	3,06	3,08	3,13	3,06	3,04	3,02	0,023
	A-C	3,12	3,14	3,04	3,11	3,07	3,06	
C8:0	C-A	3,42	3,48	3,56	3,38	3,20 ^B	3,26 ^B	0,031
	A-C	3,51	3,55	3,46	3,47	3,29 ^B	3,33 ^B	
C10:0	C-A	11,97 ^a	11,93 ^a	12,05 ^a	12,04	11,63 ^B	11,43 ^B	0,105
	A-C	11,40 ^b	11,22 ^b	10,92 ^{Bb}	11,80 ^A	11,85 ^A	11,68 ^A	
C12:0	C-A	5,27 ^a	5,41 ^a	5,53 ^a	5,39 ^a	4,98 ^B	4,96 ^B	0,075
	A-C	4,36 ^b	4,36 ^b	4,35 ^b	4,63 ^{Ab}	4,80 ^A	5,18 ^A	
C14:0	C-A	9,59 ^a	9,50 ^a	9,58 ^a	9,93 ^a	9,33	8,76 ^B	0,100
	A-C	8,27 ^b	8,12 ^b	8,19 ^b	9,00 ^{Ab}	9,19 ^A	9,14 ^A	
C16:0	C-A	28,19 ^a	26,75 ^{Ba}	26,22 ^{Ba}	29,51 ^A	29,38 ^A	26,16 ^B	0,367
	A-C	24,86 ^b	23,72 ^b	23,96 ^b	27,49 ^A	29,98 ^A	27,54 ^A	
C18:0	C-A	6,12	6,13 ^b	6,01 ^b	5,58	5,33 ^B	7,11 ^A	0,159
	A-C	6,76	7,30 ^a	7,11 ^a	6,29	5,86 ^B	6,57	
C20:0	C-A	0,14	0,14	0,14	0,12 ^B	0,12 ^B	0,13 ^B	0,003
	A-C	0,13	0,14 ^A	0,14	0,12	0,12 ^B	0,13	
C22:0	C-A	0,05 ^a	0,05	0,05	0,04 ^B	0,03 ^B	0,04 ^B	0,002
	A-C	0,04 ^b	0,04	0,04	0,04	0,04 ^B	0,04	
C24:0	C-A	0,02	0,02	0,02	0,01 ^B	0,01 ^B	0,02 ^B	0,001
	A-C	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01 ^B	0,01 ^B	
C18:0 ceto-10	C-A	0,03 ^b	0,03 ^b	0,03 ^b	0,03 ^b	0,05 ^A	0,07 ^A	0,005
	A-C	0,11 ^a	0,12 ^a	0,11 ^a	0,08 ^{Ba}	0,05 ^B	0,04 ^B	

^{A,B}Para cada variable, dentro de un tratamiento, los superíndices indican que la media es significativamente ($P < 0,05$) mayor (A) o menor (B) que la media de la hora cero.

^{a,b}Para cada variable, dentro de una hora, las medias con superíndices distintos son significativamente ($P < 0,05$) diferentes entre tratamientos.

5.3.1.1. Ácidos grasos saturados

Respecto a los ácidos grasos saturados lineales pares, la grasa láctea del tratamiento control-aceite a la hora 0 mostró mayores contenidos ($P < 0,05$) de los ácidos cáprico, laúrico, mirístico y palmítico en ambos experimentos, y de C22:0 en el experimento 4, que la del tratamiento aceite-control (**Tablas 5.16 y 5.17**). En el tratamiento control-aceite del experimento 3, los cambios temporales de los ácidos laúrico y palmítico no tuvieron una tendencia clara, mientras que los contenidos de los ácidos cáprico y mirístico fueron menores ($P < 0,05$) a la hora 24 en comparación con la hora 0. Dicho tratamiento en el experimento 4, redujo ($P < 0,05$) los contenidos de los ácidos cáprico y laúrico a las horas 12 y 24, los de los ácidos mirístico y palmítico a la hora 24 y los de C22:0 a las horas 6, 12 y 24, respecto a la hora 0. El tratamiento aceite-control tuvo efectos positivos claros ($P < 0,05$) a partir de la hora 6 sobre los contenidos de los ácidos cáprico, laúrico, mirístico y palmítico en los dos experimentos. El ácido cetosteárico mostró similitudes en el patrón de comportamiento en ambos experimentos. El contenido fue mayor ($P < 0,05$) a la hora 0 en el tratamiento aceite-control. A las horas 12 y 24 el contenido disminuyó ($P < 0,05$) en dicho tratamiento respecto a la hora 0, mientras que lo contrario fue cierto ($P < 0,05$) en el tratamiento control-aceite.

Excepto para C13:0 y C19:0, los contenidos de todos los ácidos grasos lineales impares cuantificados en la grasa láctea mostraron diferencias ($P < 0,05$) entre tratamientos a la hora 0 en el experimento 3, pero, en general, no hubo tendencias claras en el intervalo de tiempo estudiado (**Tabla 5.18**). En el experimento 4, los contenidos de C17:0, C19:0 y C23:0 fueron distintos ($P < 0,05$) entre tratamientos a la hora 0, pero solamente C17:0 mostró una disminución ($P < 0,05$) en el tratamiento control-aceite y un aumento ($P < 0,05$) en el tratamiento aceite-control a la hora 24 en comparación con la hora 0 (**Tabla 5.19**).

Tabla 5.18. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos saturados lineales impares en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3). EEM: error estándar de la media.

	Tratamiento	Horas						EEM
		0	1	3	6	12	24	
C5:0	C-A	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,001
	A-C	0,03 ^a	0,03 ^a	0,05 ^a	0,05 ^a	0,05 ^a	0,03 ^a	
C7:0	C-A	0,02 ^b	0,01	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,01	0,001
	A-C	0,04 ^a	0,03	0,04 ^a	0,05 ^{Aa}	0,04 ^a	0,03	
C9:0	C-A	0,04 ^b	0,04 ^b	0,04 ^b	0,05 ^b	0,05 ^b	0,04 ^b	0,003
	A-C	0,07 ^a	0,07 ^a	0,08 ^a	0,11 ^{Aa}	0,09 ^{Aa}	0,07 ^a	
C11:0	C-A	0,06 ^b	0,06	0,06	0,07 ^{Ab}	0,07 ^b	0,06 ^b	0,003
	A-C	0,09 ^a	0,08	0,09	0,11 ^{Aa}	0,11 ^{Aa}	0,09 ^a	
C13:0	C-A	0,09	0,09	0,09	0,10 ^A	0,09	0,07 ^{Bb}	0,002
	A-C	0,09	0,09	0,10 ^A	0,11 ^A	0,11 ^A	0,10 ^{Aa}	
C15:0	C-A	0,62 ^b	0,63	0,66	0,64 ^b	0,59 ^b	0,54 ^{Bb}	0,013
	A-C	0,75 ^a	0,75	0,77	0,80 ^{Aa}	0,77 ^a	0,77 ^a	
C17:0	C-A	0,44 ^b	0,46	0,48 ^A	0,41 ^B	0,40 ^B	0,44 ^b	0,008
	A-C	0,50 ^a	0,49	0,50	0,48	0,46 ^B	0,52 ^a	
C19:0	C-A	0,07	0,07	0,07	0,06	0,06 ^B	0,06 ^B	0,002
	A-C	0,07	0,08	0,07	0,07 ^B	0,07 ^B	0,08	
C21:0	C-A	0,03 ^b	0,03 ^b	0,03	0,02 ^B	0,03	0,03	0,001
	A-C	0,04 ^a	0,04 ^a	0,04	0,04 ^B	0,04 ^B	0,04 ^B	
C23:0	C-A	0,02 ^a	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,001
	A-C	0,02 ^b	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	

^{A,B}Para cada variable, dentro de un tratamiento, los superíndices indican que la media es significativamente ($P < 0,05$) mayor (A) o menor (B) que la media de la hora cero.

^{a,b}Para cada variable, dentro de una hora, las medias con superíndices distintos son significativamente ($P < 0,05$) diferentes entre tratamientos.

Tabla 5.19. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos saturados lineales impares en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en fibra neutro detergente (Experimento 4). EEM: error estándar de la media.

	Tratamiento	Horas						EEM
		0	1	3	6	12	24	
C5:0	C-A	0,02	0,02	0,02	0,03 ^A	0,03 ^A	0,02	0,001
	A-C	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	
C7:0	C-A	0,03	0,02	0,03	0,03	0,03 ^A	0,02	0,002
	A-C	0,04	0,03	0,04	0,04 ^A	0,04	0,03	
C9:0	C-A	0,05	0,05	0,06	0,07 ^A	0,07 ^A	0,05	0,003
	A-C	0,06	0,05	0,05	0,07 ^A	0,07 ^A	0,05	
C11:0	C-A	0,08	0,08	0,09	0,10	0,09	0,07	0,005
	A-C	0,09	0,07	0,08	0,13 ^A	0,10	0,09	
C13:0	C-A	0,11	0,12	0,14 ^{Aa}	0,13 ^A	0,11	0,09 ^B	0,003
	A-C	0,10	0,10	0,10 ^b	0,11 ^A	0,11 ^A	0,11 ^A	
C15:0	C-A	0,81	0,84	0,87 ^A	0,83	0,74 ^B	0,69 ^B	0,015
	A-C	0,76	0,79	0,79	0,78	0,77	0,80	
C17:0	C-A	0,56 ^a	0,58 ^a	0,59 ^a	0,56 ^a	0,53 ^B	0,53 ^B	0,005
	A-C	0,49 ^b	0,52 ^b	0,51 ^b	0,48 ^b	0,49	0,53 ^A	
C19:0	C-A	0,07 ^a	0,08	0,08	0,07	0,07	0,07	0,002
	A-C	0,06 ^b	0,07	0,06	0,05 ^B	0,05 ^B	0,06	
C21:0	C-A	0,04	0,04	0,04	0,03	0,04	0,05 ^A	0,001
	A-C	0,05	0,05	0,04	0,04 ^B	0,03 ^B	0,04 ^B	
C23:0	C-A	0,03 ^a	0,03	0,03	0,03	0,02 ^B	0,03	0,001
	A-C	0,02 ^b	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	

^{A,B}Para cada variable, dentro de un tratamiento, los superíndices indican que la media es significativamente ($P < 0,05$) mayor (A) o menor (B) que la media de la hora cero.

^{a,b}Para cada variable, dentro de una hora, las medias con superíndices distintos son significativamente ($P < 0,05$) diferentes entre tratamientos.

A la hora 0, 4-metiloctanoato, 4-metildodecanoato, y C17:0 iso en el experimento 3, 4-6-metiloctanoato, C17:0 anteiso y C18:0 iso en el experimento 4, y C13:0 iso en ambos experimentos, mostraron diferencias ($P > 0,05$) de sus

contenidos en la grasa láctea entre tratamientos (**Tablas 5.20 y 5.21**). En el tratamiento control-aceite, a las horas 12 y 24, el contenido de C17:0 iso y de C13:0 iso y C18:0 iso se redujo ($P < 0,05$) en los experimentos 3 y 4, respectivamente. En el tratamiento aceite-control, los contenidos de C17:0 iso y C18:0 iso fueron mayores ($P < 0,05$) a la hora 24 que a la hora 0 en los experimentos 3 y 4, respectivamente.

5.3.1.2. Ácidos grasos monoinsaturados

Los contenidos de C14:1 *cis*-9 y C19:1 *cis* fueron mayores ($P < 0,05$) en la grasa láctea del tratamiento control-aceite y el de C20:1 *cis*-9 lo fue ($P < 0,05$) en la del tratamiento aceite-control a la hora 0 en los experimentos 3 y 4 (**Tablas 5.22 y 5.23**). Otros ácidos grasos cuyos contenidos fueron mayores ($P < 0,05$) a la hora 0 en el tratamiento control-aceite que en el aceite-control fueron C10:1 *cis* en el experimento 3, y C12:1 *cis*-9, C12:1 *cis*-11, C17:1 *cis*-9 en el experimento 4. El contenido de C20:1 *cis*-11 fue mayor ($P < 0,05$) a la hora 0 en el tratamiento aceite-control del experimento 4. En la mayoría de los casos, los contenidos de los ácidos grasos mencionados se redujeron ($P < 0,05$) en el tratamiento cuyo valor fue más alto a la hora 0 y aumentaron ($P < 0,05$) en el tratamiento cuyo valor fue menor a dicha hora, pero la diferencia de los contenidos entre tratamientos a la hora 24 respecto a la hora 0 solamente se invirtieron ($P < 0,05$) en C10:1 *cis* en el experimento 3 y C14:1 *cis*-9 y C20:1 *cis*-11 en el experimento 4.

En ambos experimentos, a la hora 0, C16:1 *cis*-9 y C16:1 *cis*-13 tuvieron contenidos mayores ($P < 0,05$) en la grasa láctea del tratamiento control-aceite, mientras que C16:1 *cis*-8, C16:1 *trans*-9, C16:1 *trans*-10 y C16:1 *trans*-13 tuvieron contenidos más altos ($P < 0,05$) en el tratamiento aceite-control, en ambos experimentos (**Tablas 5.24 y 5.25**). Generalmente, los contenidos de los C16:1 se redujeron ($P < 0,05$) a la hora 24 en el tratamiento cuyo valor fue más alto a la hora 0 y aumentaron ($P < 0,05$) en el tratamiento cuyo valor fue menor a dicha hora.

Tabla 5.20. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos saturados ramificados en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3). EEM: error estándar de la media.

	Tratamiento	Horas						EEM
		0	1	3	6	12	24	
4-metiloctanoato	C-A	0,02 ^b	0,02	0,02	0,03 ^b	0,02	0,02	0,002
	A-C	0,03 ^a	0,02	0,03	0,04 ^{Aa}	0,03	0,02	
4-6-dimetiloctanoato	C-A	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02 ^B	0,02 ^B	0,001
	A-C	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	
Metildecanoato	C-A	0,04	0,03	0,03	0,04 ^b	0,04	0,03	0,002
	A-C	0,05	0,04	0,05	0,08 ^{Aa}	0,06 ^A	0,04	
4-metildodecanoato	C-A	0,01 ^b	0,01	0,01	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01	0,001
	A-C	0,01 ^a	0,01	0,02 ^A	0,02 ^{Aa}	0,02 ^{Aa}	0,01	
C13:0 iso	C-A	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01 ^B	0,01 ^B	0,001
	A-C	0,01	0,02	0,02 ^A	0,01	0,01	0,01	
C13:0 anteiso	C-A	0,01 ^b	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001
	A-C	0,01 ^a	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
C14:0 iso	C-A	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03 ^B	0,03 ^{Bb}	0,001
	A-C	0,04	0,04 ^A	0,04 ^A	0,03	0,03	0,04 ^{Aa}	
C15:0 iso	C-A	0,14	0,15 ^A	0,15 ^A	0,14	0,12 ^B	0,12 ^B	0,004
	A-C	0,15	0,16 ^A	0,16 ^A	0,14	0,13 ^B	0,15	
C15:0 anteiso	C-A	0,22	0,24 ^A	0,25 ^A	0,22	0,19 ^B	0,19 ^{Bb}	0,005
	A-C	0,24	0,25	0,26 ^A	0,22 ^B	0,21 ^B	0,26 ^a	
C16:0 iso	C-A	0,15	0,14	0,15	0,13	0,12 ^B	0,13	0,006
	A-C	0,14	0,14	0,15	0,12	0,11 ^B	0,14	
C17:0 iso	C-A	0,23 ^a	0,24	0,25	0,22	0,20 ^B	0,21 ^B	0,004
	A-C	0,21 ^b	0,22	0,24 ^A	0,21	0,19	0,23 ^A	
C17:0 anteiso	C-A	0,26	0,27	0,28	0,24	0,21 ^B	0,23 ^B	0,006
	A-C	0,27	0,25	0,25	0,21 ^B	0,21 ^B	0,27	
C18:0 iso	C-A	0,04	0,04	0,05 ^a	0,04 ^B	0,04 ^B	0,04 ^B	0,001
	A-C	0,03	0,03	0,02 ^b	0,02	0,03	0,03	

^{A,B}Para cada variable, dentro de un tratamiento, los superíndices indican que la media es significativamente ($P < 0,05$) mayor (A) o menor (B) que la media de la hora cero.

^{a,b}Para cada variable, dentro de una hora, las medias con superíndices distintos son significativamente ($P < 0,05$) diferentes entre tratamientos.

Tabla 5.21. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos saturados ramificados en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en fibra neutro detergente (Experimento 4). EEM: error estándar de la media.

	Tratamiento	Horas						EEM
		0	1	3	6	12	24	
4-metiloctanoato	C-A	0,03	0,03	0,03	0,03 ^A	0,03	0,02 ^B	0,001
	A-C	0,03	0,03	0,03	0,04 ^A	0,03	0,02 ^B	
4-6-dimetiloctanoato	C-A	0,01 ^a	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001
	A-C	0,01 ^b	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
Metildecanoato	C-A	0,05	0,05	0,05	0,06 ^A	0,05	0,04 ^B	0,001
	A-C	0,05	0,04	0,05	0,06 ^A	0,05	0,04 ^B	
4-metildodecanoato	C-A	0,01	0,01	0,02	0,02 ^A	0,01	0,01	0,000
	A-C	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	
C13:0 iso	C-A	0,02 ^a	0,02	0,02 ^A	0,02	0,01 ^B	0,02 ^B	0,001
	A-C	0,01 ^b	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	
C13:0 anteiso	C-A	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001
	A-C	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
C14:0 iso	C-A	0,07	0,08	0,08	0,07	0,06 ^B	0,06 ^{Bb}	0,002
	A-C	0,07	0,08 ^A	0,08 ^A	0,08	0,07	0,08 ^a	
C15:0 iso	C-A	0,17	0,18	0,19	0,17	0,14 ^B	0,15 ^B	0,005
	A-C	0,15	0,17	0,16	0,15	0,13	0,15	
C15:0 anteiso	C-A	0,30	0,33	0,33	0,27 ^B	0,24 ^B	0,26 ^B	0,008
	A-C	0,28	0,31	0,30	0,26	0,25 ^B	0,30	
C16:0 iso	C-A	0,19	0,20	0,20	0,17	0,16 ^B	0,18	0,004
	A-C	0,17	0,19 ^A	0,18	0,15 ^B	0,15	0,18	
C17:0 iso	C-A	0,27	0,29	0,28	0,25 ^B	0,23 ^B	0,25 ^B	0,006
	A-C	0,24	0,25	0,26	0,23	0,22 ^B	0,25	
C17:0 anteiso	C-A	0,29 ^a	0,28	0,29	0,27	0,26	0,26	0,009
	A-C	0,24 ^b	0,25	0,25	0,20	0,20	0,27	
C18:0 iso	C-A	0,05 ^a	0,05 ^a	0,05 ^a	0,05 ^{Ba}	0,04 ^B	0,04 ^B	0,001
	A-C	0,03 ^b	0,04 ^b	0,04 ^b	0,03 ^b	0,04	0,04 ^A	

^{A,B}Para cada variable, dentro de un tratamiento, los superíndices indican que la media es significativamente ($P < 0,05$) mayor (A) o menor (B) que la media de la hora cero.

^{a,b}Para cada variable, dentro de una hora, las medias con superíndices distintos son significativamente ($P < 0,05$) diferentes entre tratamientos.

Cabe destacar que C16:1 *cis*-9, C16:1 *cis*-13 y C16:1 *trans*-9 mostraron dichos cambios ya a partir de la hora 6 en el tratamiento aceite-control en ambos experimentos. No se observaron inversiones de las diferencias de los contenidos a la hora 24.

Excepto C18:1 *cis*-9 y C18:1 *cis*-11 en los experimentos 3 y 4, y C18:1 *cis*-13 en el experimento 4, los restantes C18:1 *cis* tuvieron mayores contenidos ($P < 0,05$) en la grasa láctea del tratamiento aceite-control que en la del control-aceite a la hora 0 (**Tablas 5.26 y 5.27**). Aquellos cuyos valores a la hora 24 disminuyeron ($P < 0,05$) en el tratamiento aceite-control o aumentaron ($P < 0,05$) en el tratamiento control-aceite, simultáneamente, respecto al valor de la hora 0 fueron C18:1 *cis*-12 y C18:1 *cis*-15 en ambos experimentos y C18:1 *cis*-14 y C18:1 *cis*-16 en el experimento 4. De estos cuatro isómeros, solamente C18:1 *cis*-14 en el experimento 4 y C18:1 *cis*-15 en ambos experimentos invirtieron la diferencia de sus contenidos entre tratamientos a la 24 en comparación con la hora 0. Con excepción de C18:1 *trans*-5 en ambos experimentos y C18:1 *trans*-10 en el experimento 3, los restantes C18:1 *trans* mostraron contenidos más altos ($P < 0,05$) en la grasa láctea del tratamiento aceite-control a la hora 0 (**Tablas 5.26 y 5.27**). En comparación con la hora 0, a la hora 24 se observó que los contenidos de dichos C18:1 *trans* se redujeron ($P < 0,05$) en el tratamiento aceite-control y aumentaron ($P < 0,05$) en el tratamiento control-aceite en el experimento 4, mientras que dichos cambios simultáneos se limitaron a C18:1 *trans*-11, C18:1 *trans*-12, C18:1 *trans*-13/*trans*-14 y C18:1 *trans*-16 en el experimento 3. Los contenidos de C18:1 *trans*-8, C18:1 *trans*-11 y C18:2 *trans*-12 tuvieron valores más bajos que los de la hora 0 ($P < 0,05$) desde la hora 3 en el tratamiento aceite-control de ambos experimentos y lo mismo ocurrió con C18:1 *trans*-4 en el experimento 4. C18:1 *trans*-6/*trans*-7, C18:1 *trans*-9 y C18:1 *trans*-11 en el experimento 3, C18:1 *trans*-8 en el experimento 4, y C18:1 *trans*-12 y C18:1 *trans*-13/*trans*-14 en ambos experimentos invirtieron ($P < 0,05$) la diferencia en sus contenidos a la hora 24, respecto a la hora 0.

Tabla 5.22. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de ácidos grasos monoinsaturados diversos en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3). EEM: error estándar de la media.

	Tratamiento	Horas						EEM
		0	1	3	6	12	24	
C10:1 <i>cis</i>	C-A	0,24 ^a	0,26	0,27 ^A	0,27 ^A	0,23	0,19 ^{Bb}	0,004
	A-C	0,21 ^b	0,23	0,25 ^A	0,24 ^A	0,23 ^A	0,23 ^{Aa}	
C12:1 <i>cis</i> -9	C-A	0,03	0,04	0,04 ^A	0,04 ^A	0,03	0,02 ^B	0,001
	A-C	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	
C12:1 <i>cis</i> -11	C-A	0,04	0,04	0,05	0,04	0,04	0,03	0,002
	A-C	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,06	
C14:1 <i>cis</i> -9	C-A	0,15 ^a	0,16 ^a	0,17 ^{Aa}	0,17 ^{Aa}	0,15	0,12 ^B	0,004
	A-C	0,11 ^b	0,12 ^b	0,13 ^{Ab}	0,14 ^{Ab}	0,14 ^A	0,14 ^A	
C15:1 <i>trans</i>	C-A	0,07	0,07	0,07	0,06 ^B	0,05 ^B	0,06 ^B	0,001
	A-C	0,06	0,06	0,06	0,05 ^B	0,06	0,07 ^A	
Otros C15:1	C-A	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,000
	A-C	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
C17:1 <i>cis</i> -9	C-A	0,20	0,21	0,23 ^A	0,19	0,18	0,18	0,005
	A-C	0,18	0,19	0,20	0,18	0,16 ^B	0,19	
Otros C17:1	C-A	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,000
	A-C	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	
C19:1 <i>cis</i> -10	C-A	0,15	0,16	0,16 ^b	0,16	0,16	0,15	0,004
	A-C	0,16	0,17	0,18 ^a	0,15	0,14 ^B	0,15	
C19:1 <i>cis</i>	C-A	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01 ^B	0,01 ^B	0,001
	A-C	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01	0,01	
C20:1 <i>cis</i> -9	C-A	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001
	A-C	0,02 ^a	0,02 ^a	0,02	0,01 ^B	0,01 ^B	0,02 ^B	
C20:1 <i>cis</i> -11	C-A	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,001
	A-C	0,03	0,03	0,02 ^B	0,02 ^B	0,02 ^B	0,03	
C24:1 <i>cis</i> -15	C-A	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,001
	A-C	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	

^{A,B}Para cada variable, dentro de un tratamiento, los superíndices indican que la media es significativamente ($P < 0,05$) mayor (A) o menor (B) que la media de la hora cero.

^{a,b}Para cada variable, dentro de una hora, las medias con superíndices distintos son significativamente ($P < 0,05$) diferentes entre tratamientos.

Tabla 5.23. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de ácidos grasos monoinsaturados diversos en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en fibra neutro detergente (Experimento 4). EEM: error estándar de la media.

	Tratamiento	Horas						EEM
		0	1	3	6	12	24	
C10:1 <i>cis</i>	C-A	0,27	0,30 ^A	0,33 ^A	0,29	0,23 ^B	0,21 ^B	0,006
	A-C	0,24	0,25	0,29 ^A	0,28 ^A	0,25	0,25	
C12:1 <i>cis</i> -9	C-A	0,04 ^a	0,05 ^a	0,06 ^{Aa}	0,05 ^a	0,04 ^B	0,03 ^B	0,001
	A-C	0,03 ^b	0,03 ^b	0,03 ^b	0,04 ^{Ab}	0,03	0,04 ^A	
C12:1 <i>cis</i> -11	C-A	0,08 ^a	0,10 ^{Aa}	0,11 ^{Aa}	0,09 ^a	0,06 ^B	0,07 ^B	0,002
	A-C	0,05 ^b	0,06 ^b	0,07 ^b	0,06 ^b	0,05	0,07 ^A	
C14:1 <i>cis</i> -9	C-A	0,15 ^a	0,17 ^{Aa}	0,19 ^{Aa}	0,18 ^{Aa}	0,14	0,12 ^{Bb}	0,004
	A-C	0,12 ^b	0,11 ^b	0,14 ^{Ab}	0,15 ^{Ab}	0,14 ^A	0,15 ^{Aa}	
C15:1 <i>trans</i>	C-A	0,08	0,09	0,08	0,07 ^B	0,07 ^B	0,07 ^B	0,002
	A-C	0,07	0,08	0,07	0,06 ^B	0,07	0,07	
Otros C15:1	C-A	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,000
	A-C	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
C17:1 <i>cis</i> -9	C-A	0,21 ^a	0,23 ^{Aa}	0,23 ^{Aa}	0,21 ^a	0,19 ^B	0,18 ^B	0,004
	A-C	0,16 ^b	0,16 ^b	0,18 ^{Ab}	0,16 ^b	0,15	0,19 ^A	
Otros C17:1	C-A	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,000
	A-C	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	
C19:1 <i>cis</i> -10	C-A	0,19	0,20	0,21	0,18	0,19	0,19	0,004
	A-C	0,18	0,19	0,20	0,17	0,17	0,19	
C19:1 <i>cis</i>	C-A	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01	0,01	0,001
	A-C	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01	0,01 ^B	
C20:1 <i>cis</i> -9	C-A	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^A	0,02 ^A	0,02 ^A	0,001
	A-C	0,02 ^a	0,02 ^a	0,02 ^a	0,02	0,01 ^B	0,01 ^B	
C20:1 <i>cis</i> -11	C-A	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02	0,02	0,03	0,02 ^{Aa}	0,001
	A-C	0,02 ^a	0,02 ^a	0,02	0,03	0,02	0,01 ^{Bb}	
C24:1 <i>cis</i> -15	C-A	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,001
	A-C	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	

^{A,B}Para cada variable, dentro de un tratamiento, los superíndices indican que la media es significativamente ($P < 0,05$) mayor (A) o menor (B) que la media de la hora cero.

^{a,b}Para cada variable, dentro de una hora, las medias con superíndices distintos son significativamente ($P < 0,05$) diferentes entre tratamientos.

Tabla 5.24. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos C16:1 en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3). EEM: error estándar de la media.

	Tratamiento	Horas						EEM
		0	1	3	6	12	24	
<i>cis</i> -7	C-A	0,20	0,20	0,20	0,18 ^B	0,17 ^B	0,18 ^B	0,003
	A-C	0,20	0,20	0,20	0,17 ^B	0,18 ^B	0,20	
<i>cis</i> -8	C-A	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01	0,01 ^A	0,001
	A-C	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01 ^B	0,01 ^B	
<i>cis</i> -9	C-A	0,70 ^a	0,72 ^a	0,76 ^{Aa}	0,76 ^{Aa}	0,73	0,64 ^B	0,015
	A-C	0,50 ^b	0,53 ^b	0,57 ^{Ab}	0,59 ^{Ab}	0,61 ^A	0,63 ^A	
<i>cis</i> -12	C-A	0,01 ^a	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,000
	A-C	0,01 ^b	0,01	0,01 ^A	0,01 ^A	0,01	0,01	
<i>cis</i> -13	C-A	0,12 ^a	0,12 ^a	0,13 ^a	0,15 ^{Aa}	0,14	0,11 ^B	0,004
	A-C	0,09 ^b	0,10 ^b	0,11 ^b	0,12 ^{Ab}	0,14 ^A	0,14 ^A	
<i>trans</i> -3	C-A	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001
	A-C	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
<i>trans</i> -4	C-A	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001
	A-C	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
<i>trans</i> -5	C-A	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,001
	A-C	0,02	0,02	0,02	0,03 ^A	0,03 ^A	0,02	
<i>trans</i> -6/ <i>trans</i> -7	C-A	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,001
	A-C	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	
<i>trans</i> -8	C-A	0,04	0,04	0,04	0,04 ^B	0,04 ^B	0,04 ^B	0,001
	A-C	0,04	0,04	0,04	0,03 ^B	0,04 ^B	0,04	
<i>trans</i> -9	C-A	0,18 ^b	0,17 ^b	0,17 ^b	0,15 ^B	0,18	0,23 ^A	0,008
	A-C	0,34 ^a	0,33 ^a	0,31 ^{Ba}	0,25 ^B	0,24 ^B	0,24 ^B	
<i>trans</i> -10	C-A	0,02 ^b	0,01 ^b	0,02 ^b	0,01 ^b	0,02 ^b	0,02 ^A	0,001
	A-C	0,04 ^a	0,03 ^{Ba}	0,03 ^a	0,03 ^{Ba}	0,03 ^{Ba}	0,02 ^B	
<i>trans</i> -13	C-A	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^A	0,001
	A-C	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01 ^{Ba}	0,01 ^{Ba}	0,01 ^B	
<i>trans</i> -14	C-A	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^{Bb}	0,01	0,001
	A-C	0,02 ^a	0,02 ^a	0,02 ^a	0,02 ^a	0,02 ^{Ba}	0,02 ^B	

^{A,B}Para cada variable, dentro de un tratamiento, los superíndices indican que la media es significativamente ($P < 0,05$) mayor (A) o menor (B) que la media de la hora cero.

^{a,b}Para cada variable, dentro de una hora, las medias con superíndices distintos son significativamente ($P < 0,05$) diferentes entre tratamientos.

Tabla 5.25. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos C16:1 en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en fibra neutro detergente (Experimento 4). EEM: error estándar de la media.

	Tratamiento	Horas						EEM
		0	1	3	6	12	24	
<i>cis</i> -7	C-A	0,21 ^a	0,21	0,21	0,18 ^B	0,18 ^B	0,18 ^B	0,004
	A-C	0,17 ^b	0,17	0,17	0,15 ^B	0,16	0,18	
<i>cis</i> -8	C-A	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^A	0,001
	A-C	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01 ^{Ba}	0,01 ^B	
<i>cis</i> -9	C-A	0,71 ^a	0,75 ^a	0,79 ^{Aa}	0,79 ^{Aa}	0,71	0,64 ^B	0,018
	A-C	0,57 ^b	0,56 ^b	0,61 ^b	0,67 ^{Ab}	0,71 ^A	0,71 ^A	
<i>cis</i> -12	C-A	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02 ^A	0,000
	A-C	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
<i>cis</i> -13	C-A	0,15 ^a	0,15 ^a	0,17 ^a	0,16 ^a	0,13	0,11 ^B	0,004
	A-C	0,10 ^b	0,09 ^b	0,11 ^b	0,12 ^{Ab}	0,13 ^A	0,13 ^A	
<i>trans</i> -3	C-A	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,000
	A-C	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
<i>trans</i> -4	C-A	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,000
	A-C	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
<i>trans</i> -5	C-A	0,02	0,02	0,03	0,03 ^A	0,03 ^A	0,02	0,001
	A-C	0,02	0,02	0,02	0,03 ^A	0,03 ^A	0,02	
<i>trans</i> -6/ <i>trans</i> -7	C-A	0,02	0,02	0,02	0,02 ^A	0,02 ^A	0,02	0,000
	A-C	0,02	0,02	0,02	0,02 ^A	0,02 ^A	0,02	
<i>trans</i> -8	C-A	0,04	0,04	0,04	0,03	0,04	0,04	0,001
	A-C	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	
<i>trans</i> -9	C-A	0,11 ^b	0,11 ^b	0,11 ^b	0,11 ^b	0,13 ^{Ab}	0,16 ^A	0,010
	A-C	0,28 ^a	0,28 ^a	0,29 ^a	0,24 ^{Ba}	0,22 ^{Ba}	0,20 ^B	
<i>trans</i> -10	C-A	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,02 ^A	0,001
	A-C	0,03 ^a	0,03 ^a	0,04 ^{Aa}	0,03 ^a	0,03 ^{Ba}	0,02 ^B	
<i>trans</i> -13	C-A	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01	0,01 ^A	0,001
	A-C	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01 ^B	0,01 ^B	
<i>trans</i> -14	C-A	0,01	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01	0,001
	A-C	0,02	0,02 ^a	0,02 ^a	0,02 ^a	0,02 ^a	0,02	

^{A,B}Para cada variable, dentro de un tratamiento, los superíndices indican que la media es significativamente ($P < 0,05$) mayor (A) o menor (B) que la media de la hora cero.

^{a,b}Para cada variable, dentro de una hora, las medias con superíndices distintos son significativamente ($P < 0,05$) diferentes entre tratamientos.

Tabla 5.26. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos C18:1 en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3). EEM: error estándar de la media.

	Tratamiento	Horas						EEM
		0	1	3	6	12	24	
<i>cis</i> -9	C-A	15,88	17,03	18,12 ^A	15,12	14,23 ^B	15,27	0,423
	A-C	16,10	17,01	17,53 ^A	15,37	13,70 ^B	15,30	
<i>cis</i> -11	C-A	0,62	0,65	0,67 ^b	0,55	0,59	0,62	0,024
	A-C	0,70	0,73	0,78 ^{Aa}	0,62 ^B	0,57 ^B	0,69	
<i>cis</i> -12	C-A	0,26 ^b	0,24 ^b	0,23 ^b	0,22 ^b	0,26	0,37 ^A	0,016
	A-C	0,57 ^a	0,56 ^a	0,53 ^a	0,44 ^{Ba}	0,42 ^{Ba}	0,41 ^B	
<i>cis</i> -13	C-A	0,01 ^a	0,02 ^a	0,01	0,01	0,01	0,01	0,000
	A-C	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01	0,01	0,01	0,01	
<i>cis</i> -14	C-A	0,03 ^b	0,03 ^b	0,03 ^{Bb}	0,02 ^{Bb}	0,02 ^B	0,03	0,001
	A-C	0,05 ^a	0,05 ^a	0,04 ^a	0,03 ^{Ba}	0,03 ^B	0,03 ^B	
<i>cis</i> -15	C-A	0,03 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,03 ^b	0,04	0,09 ^{Aa}	0,005
	A-C	0,15 ^a	0,16 ^a	0,14 ^a	0,10 ^{Ba}	0,07 ^B	0,06 ^{Bb}	
<i>cis</i> -16	C-A	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^B	0,02	0,03	0,001
	A-C	0,04 ^a	0,03 ^a	0,03 ^{Ba}	0,03 ^B	0,03 ^B	0,03 ^B	
<i>trans</i> -4	C-A	0,02 ^b	0,01 ^B	0,02	0,01	0,02	0,02	0,001
	A-C	0,02 ^a	0,02	0,02 ^B	0,01 ^B	0,01 ^B	0,01 ^B	
<i>trans</i> -5	C-A	0,01	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	0,000
	A-C	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	
<i>trans</i> -6/ <i>trans</i> -7	C-A	0,08 ^a	0,09	0,08	0,07 ^B	0,08	0,09 ^{Aa}	0,001
	A-C	0,06 ^b	0,08 ^A	0,07 ^A	0,06	0,06	0,06 ^b	
<i>trans</i> -8	C-A	0,13 ^b	0,12	0,12	0,09 ^B	0,11	0,14	0,004
	A-C	0,18 ^a	0,17	0,16 ^B	0,12 ^B	0,12 ^B	0,14 ^B	
<i>trans</i> -9	C-A	0,25 ^b	0,26 ^b	0,25 ^b	0,21 ^B	0,24	0,29 ^{Aa}	0,005
	A-C	0,32 ^a	0,34 ^a	0,32 ^a	0,26 ^B	0,26 ^B	0,26 ^{Bb}	
<i>trans</i> -10	C-A	0,58	0,60	0,56	0,43 ^B	0,45 ^B	0,56	0,037
	A-C	0,55	0,56	0,54	0,42 ^B	0,44 ^B	0,49 ^B	
<i>trans</i> -11	C-A	1,87 ^b	1,83 ^b	1,71 ^b	1,43 ^B	2,06	2,71 ^{Aa}	0,085
	A-C	3,25 ^a	3,27 ^a	2,92 ^{Ba}	2,30 ^B	2,18 ^B	2,19 ^{Bb}	
<i>trans</i> -12	C-A	0,38 ^b	0,37 ^b	0,34 ^b	0,30 ^{Bb}	0,41	0,53 ^{Aa}	0,014
	A-C	0,63 ^a	0,64 ^a	0,57 ^{Ba}	0,48 ^{Ba}	0,46 ^B	0,45 ^{Bb}	
<i>trans</i> -13/ <i>trans</i> -14	C-A	0,17 ^b	0,16 ^b	0,16 ^b	0,14 ^b	0,18	0,38 ^{Aa}	0,016
	A-C	0,43 ^a	0,50 ^a	0,45 ^a	0,35 ^{Ba}	0,28 ^B	0,28 ^{Bb}	
<i>trans</i> -16	C-A	0,13 ^b	0,13 ^b	0,13 ^b	0,11 ^{Bb}	0,10 ^{Bb}	0,17 ^A	0,008
	A-C	0,26 ^a	0,26 ^a	0,26 ^a	0,21 ^{Ba}	0,17 ^{Ba}	0,18 ^B	

^{A,B}Para cada variable, dentro de un tratamiento, los superíndices indican que la media es significativamente ($P < 0,05$) mayor (A) o menor (B) que la media de la hora cero.

^{a,b}Para cada variable, dentro de una hora, las medias con superíndices distintos son significativamente ($P < 0,05$) diferentes entre tratamientos.

Tabla 5.27. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos C18:1 en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en fibra neutro detergente (Experimento 4). EEM: error estándar de la media.

	Tratamiento	Horas						EEM
		0	1	3	6	12	24	
<i>cis</i> -9	C-A	15,45	16,28	16,58	14,75	14,02 ^B	15,20	0,357
	A-C	15,25	17,17 ^A	18,46 ^A	16,02	14,64	16,41	
<i>cis</i> -11	C-A	0,62	0,66	0,68 ^A	0,59	0,62	0,67	0,012
	A-C	0,62	0,64	0,65	0,57 ^B	0,54 ^B	0,58	
<i>cis</i> -12	C-A	0,24 ^b	0,25 ^b	0,23 ^b	0,20 ^b	0,34 ^A	0,41 ^A	0,015
	A-C	0,51 ^a	0,52 ^a	0,47 ^a	0,38 ^{Ba}	0,37 ^B	0,33 ^B	
<i>cis</i> -13	C-A	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001
	A-C	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
<i>cis</i> -14	C-A	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,04 ^{Aa}	0,001
	A-C	0,05 ^a	0,05 ^a	0,04 ^{Ba}	0,03 ^{Ba}	0,03 ^{Ba}	0,03 ^{Bb}	
<i>cis</i> -15	C-A	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,06 ^A	0,12 ^{Aa}	0,004
	A-C	0,11 ^a	0,11 ^a	0,10 ^a	0,07 ^{Ba}	0,05 ^B	0,04 ^{Bb}	
<i>cis</i> -16	C-A	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,03 ^A	0,03 ^A	0,001
	A-C	0,04 ^a	0,04 ^a	0,03 ^{Ba}	0,03 ^{Ba}	0,03 ^B	0,02 ^B	
<i>trans</i> -4	C-A	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,02	0,02 ^A	0,001
	A-C	0,02 ^a	0,02 ^a	0,02 ^{Ba}	0,02 ^{Ba}	0,01 ^B	0,02 ^B	
<i>trans</i> -5	C-A	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02 ^A	0,02 ^A	0,000
	A-C	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01 ^B	
<i>trans</i> -6/ <i>trans</i> -7	C-A	0,07 ^b	0,07 ^b	0,07 ^b	0,05 ^B	0,07	0,08 ^A	0,002
	A-C	0,09 ^a	0,09 ^a	0,09 ^a	0,07 ^B	0,07 ^B	0,07 ^B	
<i>trans</i> -8	C-A	0,08 ^b	0,08 ^b	0,08 ^b	0,07 ^b	0,11	0,16 ^{Aa}	0,005
	A-C	0,15 ^a	0,16 ^a	0,13 ^{Ba}	0,11 ^{Ba}	0,10 ^B	0,10 ^{Bb}	
<i>trans</i> -9	C-A	0,20 ^b	0,20 ^b	0,19 ^b	0,17 ^{Bb}	0,22 ^A	0,27 ^A	0,008
	A-C	0,33 ^a	0,34 ^a	0,32 ^a	0,26 ^{Ba}	0,25 ^B	0,25 ^B	
<i>trans</i> -10	C-A	0,32 ^b	0,34 ^b	0,33 ^b	0,26 ^b	0,35	0,47 ^A	0,017
	A-C	0,46 ^a	0,53 ^a	0,48 ^a	0,38 ^a	0,37 ^B	0,36 ^B	
<i>trans</i> -11	C-A	1,15 ^b	1,17 ^b	1,06 ^b	0,93 ^b	1,70 ^A	2,32 ^A	0,099
	A-C	3,26 ^a	3,26 ^a	2,92 ^{Ba}	2,28 ^{Ba}	2,00 ^B	1,84 ^B	
<i>trans</i> -12	C-A	0,29 ^b	0,30 ^b	0,28 ^b	0,25 ^b	0,41 ^A	0,57 ^{Aa}	0,018
	A-C	0,64 ^a	0,64 ^a	0,58 ^{Ba}	0,46 ^{Ba}	0,43 ^B	0,38 ^{Bb}	
<i>trans</i> -13/ <i>trans</i> -14	C-A	0,16 ^b	0,17 ^b	0,16 ^b	0,13 ^b	0,23	0,47 ^{Aa}	0,022
	A-C	0,49 ^a	0,53 ^a	0,51 ^a	0,40 ^{Ba}	0,30 ^B	0,24 ^{Bb}	
<i>trans</i> -16	C-A	0,12 ^b	0,12 ^b	0,12 ^b	0,10 ^b	0,11 ^b	0,22 ^A	0,008
	A-C	0,22 ^a	0,25 ^a	0,25 ^a	0,20 ^a	0,16 ^{Ba}	0,16 ^B	

^{A,B}Para cada variable, dentro de un tratamiento, los superíndices indican que la media es significativamente ($P < 0,05$) mayor (A) o menor (B) que la media de la hora cero.

^{a,b}Para cada variable, dentro de una hora, las medias con superíndices distintos son significativamente ($P < 0,05$) diferentes entre tratamientos.

5.3.1.3. Ácidos grasos poliinsaturados

Los C18:2 no conjugados, excepto C18:2 *cis*-9,*cis*-12, se encontraron en mayor cantidad ($P < 0,05$) en la grasa láctea del tratamiento aceite-control que en la del control-aceite a la hora 0 en los experimentos 3 y 4 (**Tablas 5.28 y 5.29**). Estos ácidos grasos cambiaron en sentidos opuestos a la hora 24, con una disminución ($P < 0,05$) de los contenidos en el tratamiento aceite-control y un aumento ($P < 0,05$) en el tratamiento control-aceite, en comparación con la hora 0, lo que ocasionó que los C18:2 *trans-trans* no identificados, C18:2 *trans*-10,*cis*-15, C18:2 *trans*-11,*cis*-15 y C18:2 *cis*-9,*cis*-15 en el experimento 4, y C18:2 *trans*-11,*cis*-15, y C18:2 *cis*-12,*cis*-15 en ambos experimentos mostraron una inversión ($P < 0,05$) de las diferencias de sus contenidos entre tratamientos a la hora 24 en comparación con la hora 0. Los C18:2 conjugados que mostraron diferencias ($P < 0,05$) entre tratamientos a la hora 0 fueron C18:2 *trans*-7,*cis*-9, C18:2 *cis*-9,*trans*-11 y C18:2 *trans*-11,*trans*-13 en el experimento 4 y solamente C18:2 *cis*-9,*trans*-11 en el experimento 3. Todos ellos, tuvieron mayores contenidos en el tratamiento aceite-control que en el control-aceite. Al igual que los C18:2 no conjugados, los contenidos de estos ácidos grasos disminuyeron ($P < 0,05$) en la grasa láctea del tratamiento aceite-control y aumentaron ($P < 0,05$) en la del tratamiento control-aceite a la hora 24 respecto a la hora 0, pero en ninguno de ellos se observó ($P < 0,05$) una inversión de la diferencia de los contenidos entre tratamientos a la hora 24, en comparación con la de la hora 0. En el tratamiento aceite-control de ambos experimentos, la práctica totalidad de los C18:2 conjugados y no conjugados mencionados anteriormente redujeron ($P < 0,05$) sus contenidos a partir de la hora 6.

El ácido C16:2 mostró un comportamiento común en ambos experimentos (**Tablas 5.30 y 5.31**). Su contenido en la grasa láctea fue mayor ($P < 0,05$) en el tratamiento aceite-control a la hora 0. Tuvo un valor menor ($P < 0,05$) a partir de la hora 6 y un valor mayor ($P < 0,05$) a la hora 24 respecto a la hora 0 en los tratamientos aceite-control y control-aceite, respectivamente, sin que las diferencias entre tratamientos a la hora 0 se invirtieran a la hora 24 ($P > 0,05$).

Tabla 5.28. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos C18:2 en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3). EEM: error estándar de la media.

	Tratamiento	Horas						EEM
		0	1	3	6	12	24	
<i>Otros trans,trans</i>	C-A	0,05 ^b	0,04 ^b	0,05 ^b	0,04 ^{Bb}	0,04 ^B	0,06 ^A	0,001
	A-C	0,06 ^a	0,07 ^{Aa}	0,06 ^a	0,05 ^{Ba}	0,05 ^B	0,05 ^B	
<i>cis-9,trans-13/trans-8,cis-12</i>	C-A	0,25 ^b	0,26 ^b	0,27 ^b	0,22 ^b	0,24 ^b	0,32 ^A	0,011
	A-C	0,44 ^a	0,49 ^{Aa}	0,51 ^{Aa}	0,40 ^{Ba}	0,34 ^{Ba}	0,35 ^B	
<i>trans-8,cis-13</i>	C-A	0,06 ^b	0,07 ^b	0,07 ^b	0,06 ^b	0,06 ^b	0,08 ^A	0,003
	A-C	0,11 ^a	0,12 ^a	0,13 ^{Aa}	0,10 ^a	0,08 ^{Ba}	0,08 ^B	
<i>cis-9,trans-12</i>	C-A	0,03 ^b	0,03 ^b	0,03 ^b	0,03 ^b	0,03	0,03	0,001
	A-C	0,04 ^a	0,04 ^a	0,05 ^{Aa}	0,04 ^a	0,03 ^B	0,03 ^B	
<i>trans-9,cis-12</i>	C-A	0,02 ^b	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,001
	A-C	0,03 ^a	0,03	0,03	0,03 ^B	0,03 ^B	0,03 ^B	
<i>trans-10,cis-15</i>	C-A	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,02 ^A	0,03 ^A	0,04 ^A	0,004
	A-C	0,08 ^a	0,07 ^a	0,06 ^a	0,04 ^B	0,03 ^B	0,03 ^B	
<i>trans-11,cis-15</i>	C-A	0,09 ^b	0,06 ^b	0,05 ^b	0,11 ^b	0,28 ^A	0,33 ^{Aa}	0,020
	A-C	0,55 ^a	0,50 ^a	0,45 ^a	0,31 ^{Ba}	0,24 ^B	0,19 ^{Bb}	
<i>cis-9,cis-12</i>	C-A	2,11	2,11	2,16	2,02	2,06	2,01	0,038
	A-C	2,07	2,00	2,04	1,90 ^B	1,91 ^B	1,96	
<i>cis-9,cis-15</i>	C-A	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,02 ^A	0,03 ^A	0,001
	A-C	0,05 ^a	0,05 ^a	0,04 ^{Ba}	0,03 ^{Ba}	0,03 ^B	0,03 ^B	
<i>cis-12,cis-15</i>	C-A	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,02	0,02 ^B	0,04 ^{Aa}	0,002
	A-C	0,04 ^a	0,04 ^a	0,03 ^a	0,03	0,02 ^B	0,02 ^{Bb}	
<i>trans-7,cis-9</i>	C-A	0,05	0,05	0,05	0,04	0,04	0,05	0,001
	A-C	0,05	0,06 ^A	0,06 ^A	0,05	0,05	0,06 ^A	
<i>cis-9,trans-11</i>	C-A	0,92 ^b	0,97 ^b	0,97 ^b	0,81 ^b	1,01	1,09 ^A	0,031
	A-C	1,36 ^a	1,47 ^a	1,49 ^a	1,14 ^a	1,05 ^B	1,03 ^B	
<i>trans-9,cis-11</i>	C-A	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001
	A-C	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
<i>trans-10,cis-12</i>	C-A	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001
	A-C	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
<i>trans-11,cis-13</i>	C-A	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001
	A-C	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
<i>trans-11,trans-13</i>	C-A	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,001
	A-C	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	

^{A,B}Para cada variable, dentro de un tratamiento, los superíndices indican que la media es significativamente ($P < 0,05$) mayor (A) o menor (B) que la media de la hora cero.

^{a,b}Para cada variable, dentro de una hora, las medias con superíndices distintos son significativamente ($P < 0,05$) diferentes entre tratamientos.

Tabla 5.29. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos C18:2 en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en fibra neutro detergente (Experimento 4).

	Tratamiento	Horas						EEM
		0	1	3	6	12	24	
<i>Otros trans,trans</i>	C-A	0,04 ^b	0,04 ^b	0,04 ^b	0,03 ^b	0,04	0,06 ^{Aa}	0,002
	A-C	0,07 ^a	0,07 ^a	0,07 ^a	0,05 ^{Ba}	0,05 ^B	0,05 ^{Bb}	
<i>cis-9,trans-13/trans-8,cis-12</i>	C-A	0,23 ^b	0,26 ^b	0,26 ^b	0,21 ^b	0,26 ^b	0,38 ^A	0,014
	A-C	0,46 ^a	0,50 ^{Aa}	0,52 ^{Aa}	0,42 ^{Ba}	0,33 ^{Ba}	0,32 ^B	
<i>trans-8,cis-13</i>	C-A	0,06 ^b	0,06 ^b	0,06 ^b	0,05 ^b	0,05 ^b	0,09 ^A	0,004
	A-C	0,11 ^a	0,12 ^a	0,14 ^{Aa}	0,11 ^a	0,08 ^{Ba}	0,08 ^B	
<i>cis-9,trans-12</i>	C-A	0,03 ^b	0,03 ^b	0,03 ^b	0,03 ^b	0,03	0,04 ^A	0,001
	A-C	0,05 ^a	0,05 ^a	0,05 ^a	0,04 ^a	0,04 ^B	0,03 ^B	
<i>trans-9,cis-12</i>	C-A	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02	0,03 ^A	0,03 ^A	0,001
	A-C	0,03 ^a	0,03 ^a	0,03 ^a	0,02 ^B	0,02 ^B	0,02 ^B	
<i>trans-10,cis-15</i>	C-A	0,01 ^b	0,02 ^b	0,01 ^b	0,02	0,07 ^A	0,08 ^{Aa}	0,005
	A-C	0,08 ^a	0,08 ^a	0,06 ^a	0,04 ^B	0,03 ^B	0,02 ^{Bb}	
<i>trans-11,cis-15</i>	C-A	0,05 ^b	0,05 ^b	0,05 ^b	0,06 ^b	0,29 ^A	0,32 ^{Aa}	0,027
	A-C	0,67 ^a	0,66 ^a	0,53 ^a	0,38 ^a	0,27 ^B	0,20 ^{Bb}	
<i>cis-9,cis-12</i>	C-A	2,48	2,54	2,46	2,21 ^B	2,42	2,28	0,052
	A-C	2,17	2,11	2,12	1,93 ^B	2,05	2,22	
<i>cis-9,cis-15</i>	C-A	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,03 ^{Aa}	0,04 ^{Aa}	0,002
	A-C	0,04 ^a	0,04 ^a	0,03 ^{Ba}	0,02 ^{Ba}	0,02 ^{Bb}	0,01 ^{Bb}	
<i>cis-12,cis-15</i>	C-A	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01	0,04 ^{Aa}	0,03 ^{Aa}	0,002
	A-C	0,04 ^a	0,04 ^a	0,03 ^{Ba}	0,03 ^B	0,02 ^{Bb}	0,02 ^{Bb}	
<i>trans-7,cis-9</i>	C-A	0,04 ^b	0,04 ^b	0,04 ^b	0,04 ^b	0,04	0,05 ^A	0,001
	A-C	0,06 ^a	0,06 ^a	0,06 ^a	0,05 ^{Ba}	0,05 ^B	0,05 ^B	
<i>cis-9,trans-11</i>	C-A	0,63 ^b	0,68 ^b	0,66 ^b	0,58 ^b	0,77 ^A	0,90 ^A	0,045
	A-C	1,48 ^a	1,49 ^a	1,55 ^a	1,23 ^{Ba}	1,04 ^B	1,00 ^B	
<i>trans-9,cis-11</i>	C-A	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001
	A-C	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
<i>trans-10,cis-12</i>	C-A	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001
	A-C	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
<i>trans-11,cis-13</i>	C-A	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001
	A-C	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
<i>trans-11,trans-13</i>	C-A	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01	0,01	0,01	0,001
	A-C	0,02 ^a	0,02 ^a	0,02 ^a	0,02 ^{Ba}	0,01 ^B	0,01 ^B	

^{A,B}Para cada variable, dentro de un tratamiento, los superíndices indican que la media es significativamente ($P < 0,05$) mayor (A) o menor (B) que la media de la hora cero.

^{a,b}Para cada variable, dentro de una hora, las medias con superíndices distintos son significativamente ($P < 0,05$) diferentes entre tratamientos.

Los contenidos de los C18:3 en la grasa láctea, excepto C18:3 *cis*-9,*trans*-12,*cis*-15 en el experimento 4 y C18:3 *cis*-9,*trans*-11,*trans*-15 en ambos experimentos, tuvieron valores mayores ($P < 0,05$) en el tratamiento aceite-control que en el control-aceite a la hora 0 (Tablas 5.30 y 5.31). La mayoría de ellos mostraron una reducción ($P < 0,05$) de sus contenidos en el tratamiento aceite-control y un aumento ($P < 0,05$) en el tratamiento control-aceite a las horas 12 y 24 en comparación con la hora 0, aunque algunos, como el ácido α -linolénico en el experimento 3 y C18:3 *cis*-9,*trans*-12,*cis*-15 y el grupo de otros en el experimento 4, mostraron una reducción ($P < 0,05$) de sus contenidos ya a partir de la hora 3. Dichos cambios resultaron en que las diferencias entre los tratamientos observadas a la hora 0 en los contenidos de los ácidos γ -linolénico y C18:3 *cis*-9,*trans*-11,*cis*-15 en ambos experimentos y en los de los ácidos α -linolénico, C18:3 *cis*-9,*trans*-12,*cis*-15 y otros C18:3 en el experimento 4, se invirtieran ($P < 0,05$) a las horas 12 y 24.

Los contenidos de los ácidos grasos poliinsaturados con 20 o más átomos de carbono mostraron pocos cambios, especialmente en el experimento 3 (Tablas 5.30 y 5.31). En ambos experimentos, C20:3 n-6 tuvo un contenido mayor ($P < 0,05$) en el tratamiento control-aceite que en el tratamiento aceite-control a la hora 0, y aumentó ($P < 0,05$) en dicho tratamiento a la hora 24 en comparación con la hora 0. El contenido del ácido C20:5 n-3 fue mayor ($P < 0,05$) a la hora 0 en el tratamiento aceite-control que en el tratamiento control-aceite en los dos experimentos, pero no mostró ($P > 0,05$) ninguna evolución temporal. El ácido C20:4 n-6 mostró un contenido mayor ($P < 0,05$) en el tratamiento control-aceite que en el tratamiento aceite-control a la hora 0 en el experimento 3, y el valor fue menor ($P < 0,05$) a la hora 24 respecto a la hora 0 en el primer tratamiento. Otros ácidos grasos que mostraron diferencias ($P < 0,05$) a la hora 0 pero no mostraron ($P > 0,05$) cambios temporales fueron el grupo de no identificados en el experimento 3, C22:4 n-6, C22:5 n-3 y C22:6 n-3 en el experimento 4, y C20:5 n-3 en ambos experimentos.

Tabla 5.30. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos poliinsaturados distintos de C18:2 en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3). EEM: error estándar de la media.

	Tratamiento	Horas						EEM
		0	1	3	6	12	24	
C16:2	C-A	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01	0,02	0,02 ^A	0,001
	A-C	0,03 ^a	0,03 ^a	0,03 ^a	0,02 ^B	0,01 ^B	0,01 ^B	
C18:3								
<i>cis</i> -6, <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12	C-A	0,03 ^b	0,03 ^b	0,03 ^b	0,03	0,04 ^{Aa}	0,04 ^{Aa}	0,001
	A-C	0,04 ^a	0,04 ^a	0,04 ^a	0,03 ^B	0,03 ^{Bb}	0,03 ^{Bb}	
<i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15	C-A	0,35 ^b	0,34 ^b	0,32 ^b	0,36	0,45 ^A	0,50 ^A	0,014
	A-C	0,66 ^a	0,63 ^a	0,56 ^{Ba}	0,44 ^B	0,46 ^B	0,50 ^B	
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -12, <i>cis</i> -15	C-A	0,01 ^b	0,02	0,02 ^A	0,02	0,01	0,01	0,001
	A-C	0,02 ^a	0,02	0,02	0,01 ^B	0,01 ^B	0,01 ^B	
<i>trans</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15	C-A	0,02 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,03	0,06 ^A	0,07 ^A	0,003
	A-C	0,11 ^a	0,11 ^a	0,10 ^a	0,06 ^B	0,05 ^B	0,05 ^B	
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11, <i>trans</i> -15	C-A	0,01	0,02 ^{Ab}	0,02 ^A	0,02 ^{Aa}	0,01	0,01	0,001
	A-C	0,01	0,02 ^a	0,01	0,01 ^b	0,02	0,02	
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15	C-A	0,04 ^b	0,04 ^b	0,04 ^b	0,05 ^A	0,06 ^{Aa}	0,05 ^{Aa}	0,004
	A-C	0,06 ^a	0,06 ^a	0,05 ^a	0,04 ^B	0,04 ^{Bb}	0,04 ^{Bb}	
Otros	C-A	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,02 ^b	0,04 ^A	0,05 ^A	0,000
	A-C	0,09 ^a	0,09 ^a	0,08 ^a	0,06 ^{Ba}	0,06 ^B	0,05 ^B	
C20:3 n-6	C-A	0,02 ^a	0,02 ^{Aa}	0,02 ^{Aa}	0,02	0,02	0,02	0,001
	A-C	0,01 ^b	0,01 ^b	0,02 ^b	0,02 ^A	0,02 ^A	0,02 ^A	
C20:4 n-6	C-A	0,19	0,19	0,21 ^A	0,22 ^A	0,22 ^A	0,18	0,005
	A-C	0,15	0,15	0,16	0,18 ^A	0,18 ^A	0,16	
C20:5 n-3	C-A	0,03 ^b	0,04	0,04	0,04 ^b	0,04 ^b	0,03 ^b	0,001
	A-C	0,04 ^a	0,04	0,05	0,05 ^a	0,05 ^a	0,05 ^a	
C22:4 n-6	C-A	0,04	0,04 ^a	0,04	0,04	0,03	0,03	0,001
	A-C	0,03	0,03 ^b	0,03	0,03	0,03	0,02	
C22:5 n-3	C-A	0,09	0,10	0,10 ^A	0,09	0,08 ^b	0,08 ^b	0,001
	A-C	0,09	0,10	0,11 ^A	0,09	0,09	0,09	
C22:6 n-3	C-A	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,001
	A-C	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	
No identificados	C-A	0,03 ^a	0,03	0,03	0,03	0,03 ^a	0,03	0,001
	A-C	0,02 ^b	0,03	0,03	0,03	0,02 ^b	0,03	

^{A,B}Para cada variable, dentro de un tratamiento, los superíndices indican que la media es significativamente ($P < 0,05$) mayor (A) o menor (B) que la media de la hora cero.

^{a,b}Para cada variable, dentro de una hora, las medias con superíndices distintos son significativamente ($P < 0,05$) diferentes entre tratamientos.

Tabla 5.31. Cambios temporales de los contenidos (g por cada 100 g de ésteres metílicos de ácidos grasos) de los ácidos grasos poliinsaturados distintos de C18:2 en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en fibra neutro detergente (Experimento 4). EEM: error estándar de la media.

	Tratamiento	Horas						EEM
		0	1	3	6	12	24	
C16:2	C-A	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01	0,02 ^A	0,02 ^A	0,001
	A-C	0,03 ^a	0,03 ^a	0,03 ^a	0,02 ^B	0,02 ^B	0,01 ^B	
C18:3								
<i>cis</i> -6, <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12	C-A	0,03 ^b	0,03 ^b	0,03	0,03	0,05 ^{Aa}	0,05 ^{Aa}	0,001
	A-C	0,05 ^a	0,05 ^a	0,04	0,04 ^B	0,03 ^{Bb}	0,03 ^{Bb}	
<i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15	C-A	0,48 ^b	0,51 ^b	0,46 ^b	0,45	0,86 ^{Aa}	0,80 ^{Aa}	0,032
	A-C	0,97 ^a	0,94 ^a	0,81 ^a	0,64 ^B	0,64 ^{Bb}	0,63 ^{Bb}	
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -12, <i>cis</i> -15	C-A	0,01	0,02	0,02	0,01	0,02 ^a	0,02	0,003
	A-C	0,02	0,02	0,02	0,01 ^B	0,01 ^{Bb}	0,01 ^b	
<i>trans</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15	C-A	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,03 ^b	0,12 ^{Aa}	0,11 ^{Aa}	0,006
	A-C	0,15 ^a	0,14 ^a	0,12 ^{Ba}	0,09 ^{Ba}	0,07 ^{Bb}	0,05 ^{Bb}	
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11, <i>trans</i> -15	C-A	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001
	A-C	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02	
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15	C-A	0,04 ^b	0,04 ^b	0,04 ^b	0,04	0,07 ^{Aa}	0,06 ^{Aa}	0,006
	A-C	0,08 ^a	0,08 ^a	0,07 ^a	0,05	0,05 ^{Bb}	0,04 ^{Bb}	
Otros	C-A	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,03 ^b	0,11 ^A	0,10 ^{Aa}	0,001
	A-C	0,15 ^a	0,14 ^a	0,12 ^{Ba}	0,10 ^{Ba}	0,08 ^B	0,06 ^{Bb}	
C20:3 n-6	C-A	0,02 ^a	0,02 ^a	0,02 ^a	0,02 ^a	0,02 ^{Ba}	0,02 ^B	0,001
	A-C	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,02 ^A	
C20:4 n-6	C-A	0,23 ^a	0,24 ^a	0,25 ^{Aa}	0,25	0,23	0,21 ^B	0,006
	A-C	0,17 ^b	0,16 ^b	0,18 ^b	0,19 ^A	0,18	0,17	
C20:5 n-3	C-A	0,05 ^b	0,05	0,05 ^b	0,05	0,05	0,05	0,001
	A-C	0,06 ^a	0,06	0,06 ^a	0,06	0,06	0,06	
C22:4 n-6	C-A	0,04 ^a	0,04 ^a	0,03 ^a	0,04 ^a	0,03 ^a	0,03	0,001
	A-C	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01	
C22:5 n-3	C-A	0,09 ^b	0,09	0,10 ^A	0,10 ^A	0,08	0,08	0,002
	A-C	0,11 ^a	0,11	0,13 ^A	0,12	0,11	0,11	
C22:6 n-3	C-A	0,02 ^a	0,02	0,02	0,03 ^{Aa}	0,02	0,02	0,001
	A-C	0,02 ^b	0,02	0,02	0,02 ^b	0,02	0,02	
No identificados	C-A	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,001
	A-C	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	

^{A,B}Para cada variable, dentro de un tratamiento, los superíndices indican que la media es significativamente ($P < 0,05$) mayor (A) o menor (B) que la media de la hora cero.

^{a,b}Para cada variable, dentro de una hora, las medias con superíndices distintos son significativamente ($P < 0,05$) diferentes entre tratamientos.

5.3.2. Discusión

El objetivo de estos experimentos fue obtener información sobre los cambios en la composición de la grasa láctea en las primeras 24 horas tras el cambio de una ración sin aceite de lino a otra con aceite y viceversa, y el efecto sobre dichos cambios que pudiera ejercer el tipo de carbohidratos mayoritarios en el concentrado de la ración. Dado que a los animales se les suministró la misma ración basal en los períodos experimentales, la única diferencia entre los tratamientos dentro de cada experimento fue la inclusión o la supresión del aceite en la ración. La discusión de los resultados se realiza en conjunto porque hubo simultaneidad en la ejecución de las pruebas y las condiciones de manejo y alimentación, y la base animal fueron homogéneas.

En las **Figuras 5.24 a 5.27** se muestran los cambios temporales de algunos grupos de ácidos grasos relevantes desde el punto de vista de su repercusión sobre el conocimiento del metabolismo ruminal y mamario, así como por sus efectos sobre la salud humana. Los contenidos de los ácidos grasos individuales mostraron dos tipos de respuesta en ambos experimentos. Algo más de la mitad de los ácidos grasos mostraron una ausencia de diferencias significativas entre tratamientos a la hora 0 o, a pesar de ser significativamente diferentes a la hora 0, no tuvieron un patrón claro de cambios en el tiempo. Los contenidos de los restantes ácidos grasos, además de ser significativamente diferentes entre los tratamientos a la hora 0, respondieron al cambio de la ración con una tendencia creciente o decreciente claramente definida, que en ocasiones llevó a que las diferencias observadas a la hora 0 se invirtieran a la hora 24 e incluso antes. Este efecto fue especialmente marcado en los ácidos grasos insaturados de 18 átomos de carbono (**Tablas 5.26 a 5.31**) cuya presencia en la grasa láctea se relaciona con el consumo de aceite de lino (Martínez Marín *et al.*, 2015a). Estos cambios son los más interesantes ya que pueden contribuir al conocimiento de la cinética de los efectos de la composición de la ración suministrada sobre el ambiente ruminal y el metabolismo de la glándula mamaria en cabras.

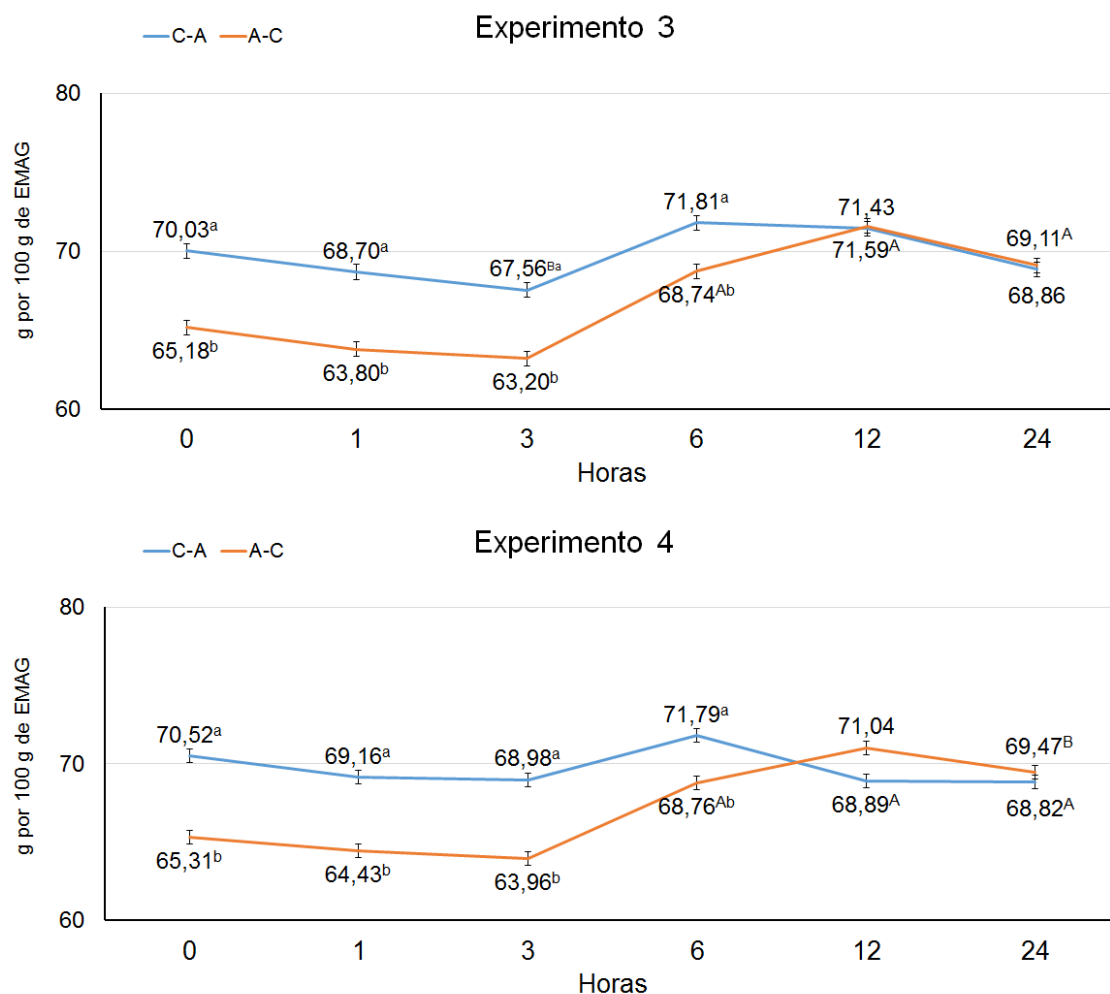


Figura 5.24. Evolución de los contenidos de los ácidos grasos saturados lineales pares totales en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4). EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos.

La principal dificultad que plantea la discusión de nuestros resultados es la escasez de investigaciones similares publicadas. Trabajos previos realizados con vacas (Elgersma *et al.*, 2004; Khanal *et al.*, 2008; Coppa *et al.*, 2012; Rego *et al.*, 2016), ovejas (Biondi *et al.*, 2008) y cabras (Renna *et al.*, 2012) han investigado la evolución temporal de los contenidos de los ácidos grasos en la grasa láctea tras cambiar la ración ofrecida en establo por alimentación sobre pastos, naturales o cultivados y con mayor contenido de ácido α -linolénico que la ración de establo, o viceversa. Algunos autores han reportado la respuesta

temporal de los contenidos de los ácidos grasos en la grasa láctea tras la inclusión de aceites vegetales en la ración de vacas (Dhiman *et al.*, 2000; Roy *et al.*, 2006) y ovejas (Gómez-Cortés *et al.*, 2008, 2009a; Hervás *et al.*, 2008; Soják *et al.*, 2015). Pocos trabajos se han publicado sobre resultados obtenidos en cabras y el número reportado de ácidos grasos en algunos de ellos es muy limitado (Chilliard *et al.*, 2005, Luna *et al.*, 2008; Martínez Marín *et al.* 2013b). No nos consta que se hayan estudiado los cambios de la composición de la grasa láctea tras la retirada de la fuente de grasa suplementaria de la ración suministrada. Únicamente, Drackley *et al.* (2007) señalaron que las vacas que recibieron infusiones abomasales de ácidos grasos de cadena larga en trabajos experimentales de su grupo retornaron a los valores previos a la infusión en los primeros siete días tras cesar aquella, pero no ofrecieron datos de composición de la grasa láctea.

En el presente trabajo, los contenidos de algunos ácidos grasos en la grasa láctea sufrieron cambios claros, crecientes o decrecientes, respecto al valor inicial a partir de tres horas (p. ej. C14:1 *cis*-9, C16:1 *cis*-9, C18:1 *trans*-8, C18:1 *trans*-11, C18:1 *trans*-12, C18:2 *cis*-9,*cis*-15, ácido α -linolénico) o seis horas (p. ej. ácidos grasos saturados de cadena media, C18:1 *trans*-9, ácido ruménico, C16:2) después de iniciar el consumo de una ración en la que se incluyó o suprimió el aceite de lino. Adicionalmente, los resultados indicaron que, en algunos casos, la rapidez en los cambios estuvo modulada por el tipo de carbohidratos mayoritarios en la ración (p. ej. ácido cetoesteárico, C18:2 *cis*-12,*cis*-15, ácido ruménico, ácido α -linolénico) y, por lo general, fueron más claros y tempranos en respuesta a la retirada del aceite de la ración (p. ej. todos los ácidos grasos mencionados más arriba). En general, en las condiciones del presente trabajo, hicieron falta por lo general más de 6 horas para que los efectos del consumo de aceite de lino sobre el ambiente ruminal y la glándula mamaria se tradujeran en cambios de los contenidos de los ácidos grasos de la grasa láctea.

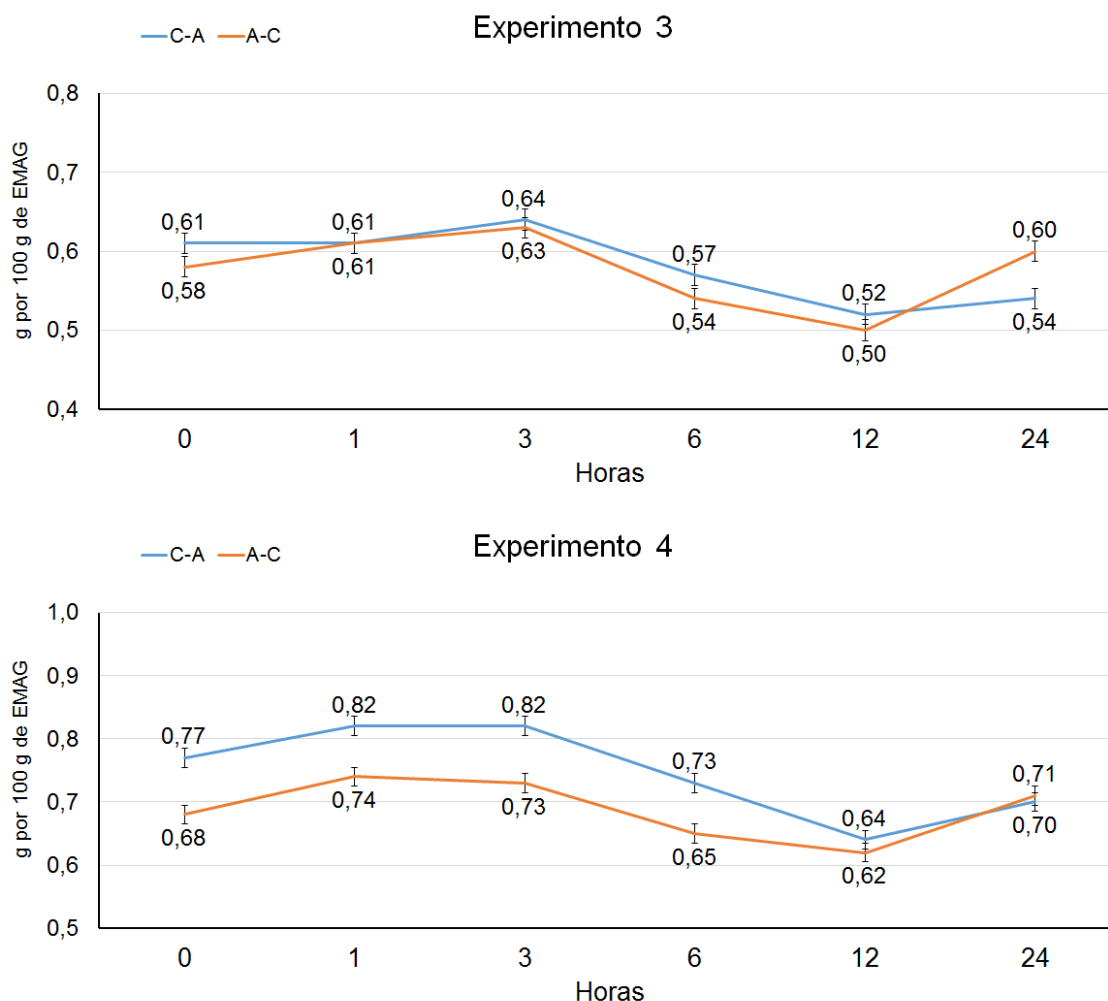


Figura 5.25. Evolución de los contenidos de los ácidos grasos saturados iso totales en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4). EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos.

Cuando se estudian los cambios temporales de los contenidos de los ácidos grasos en la grasa láctea tras el cambio de la ración suministrada a los animales, hay que tener presente que la respuesta observada incluye no solamente el tiempo requerido para la acción bacteriana sobre los lípidos consumidos, sino también el tiempo transcurrido desde que los ácidos grasos abandonan el rumen, son transportados a la glándula mamaria, y captados por

esta e incorporados a los triacilglicerolos. La lipólisis bacteriana de los triacilglicerolos y los glicolípidos presentes en los alimentos que llegan al rumen es rápida y extensa, y deja disponibles a los ácidos grasos insaturados para la biohidrogenación ruminal (Moate *et al.*, 2004). Numerosas pruebas realizadas *in vitro* con mezclas de poblaciones microbianas del rumen muestran una rápida desaparición de los ácidos grasos insaturados tras su adición al medio de cultivo y una aparición muy temprana de productos intermediarios de la biohidrogenación (Wilde y Dawson, 1966; Mosley *et al.*, 2002; Jouany *et al.*, 2007; Or-Rashid *et al.*, 2011; Honkanen *et al.*, 2012; Zhu *et al.*, 2016). Por otro lado, los resultados obtenidos en cabras por Li *et al.* (2009) muestran que el contenido de ácido ruménico en el fluido ruminal se mantiene elevado entre 1 y 6 horas después de suministrar una ración con aceite de soja, en comparación con la ración control sin aceite añadido. Bickerstaffe *et al.* (1972) determinaron en cabras los tiempos de biohidrogenación ruminal de los ácidos oleico, linoleico y α -linolénico y el paso a duodeno de dichos ácidos grasos y sus productos de biohidrogenación, así como la absorción duodenal y transferencia de los ácidos esteárico y oleico a la grasa láctea, usando ácidos grasos marcados con isótopos radiactivos. Estos autores observaron que 3 horas después de la infusión ruminal de los ácidos oleico, linoleico y α -linolénico se recuperó en duodeno más del 76% de la radiactividad en forma de ácido esteárico. La infusión duodenal de los ácidos esteárico y oleico mostró que la máxima radiactividad ocurrió a las 2,5 y 6 horas tras la infusión en linfa y leche, respectivamente. Los resultados de Bickerstaffe *et al.* (1972) y Li *et al.* (2009) indican que la biohidrogenación de los ácidos grasos de la ración consumida por los animales es muy rápida y que los productos resultantes de la misma, así como los ácidos grasos que escapan intactos del rumen, pueden aparecer en la grasa láctea tan pronto como 6 horas después del consumo de aquella. A pesar de lo anterior, la mayoría de los trabajos publicados sobre los cambios temporales de los contenidos de los ácidos grasos de la grasa láctea al incluir aceites vegetales en la ración suministrada muestran los resultados obtenidos en muestras de leche recogidas como muy pronto 24 horas después del cambio de la ración (Roy *et al.*, 2006; Soják *et al.*, 2015). Sin embargo, Martínez Marín

et al. (2013b) reportaron cambios en los contenidos de los ácidos α -linolénico y vaccénico a 1 hora y 12 horas, respectivamente, después de incluir aceite de lino en una ración para cabras. En definitiva, nuestros resultados están en consonancia con las observaciones de Bickerstaffe *et al.* (1972), Li *et al.* (2009) y Martínez Marín *et al.* (2013b).

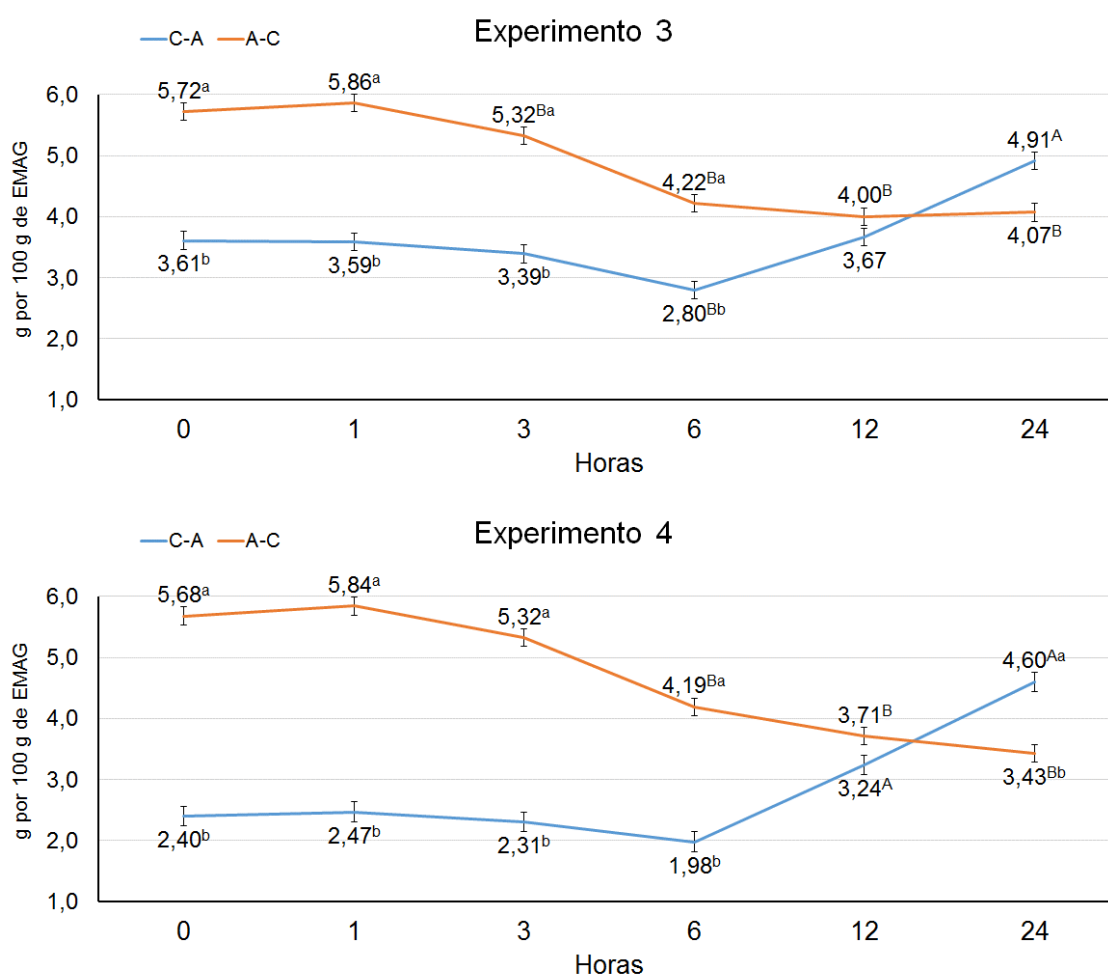


Figura 5.26. Evolución de los contenidos de los ácidos grasos C18:1 *trans* totales en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4). EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos.

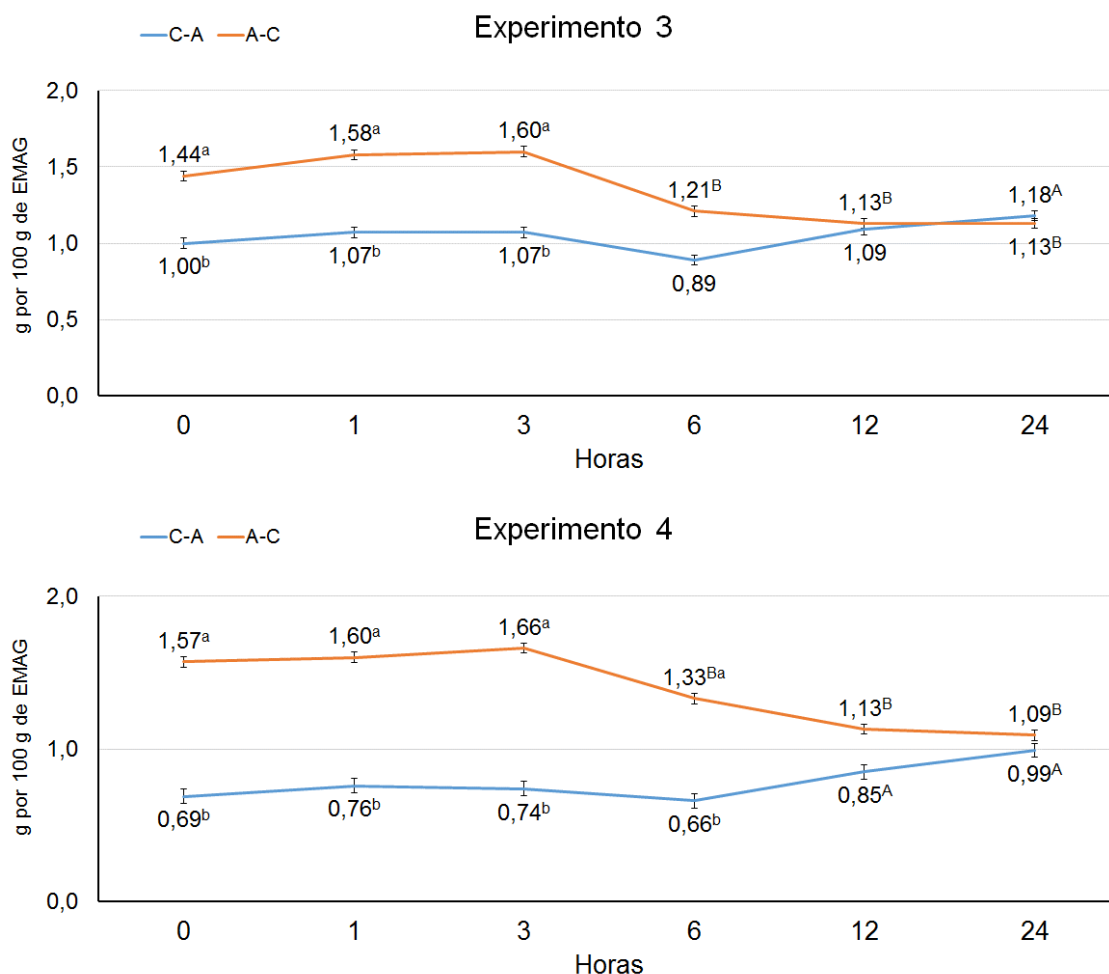


Figura 5.27. Evolución de los contenidos de los ácidos grasos C18:2 conjugados totales en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4). EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos.

5.3.2.1. Ácidos grasos saturados

Los contenidos de los ácidos laúrico, mirístico y palmítico aumentaron de forma clara a partir de 6 horas tras el cambio a la ración sin aceite de lino en ambos experimentos. Por el contrario, el efecto del cambio a la ración con aceite se demoró hasta 24 horas (**Tablas 5.16 y 5.17, Figura 5.28**). Dichos ácidos grasos son sintetizados *de novo* casi en su totalidad en la glándula mamaria a partir de acetato (Barber *et al.*, 1997; Palmquist, 2006), procedente de la fermentación ruminal de la fibra neutro detergente llevada a cabo por las bacterias

celulolíticas (Cantalapiedra-Hijar *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2010). Los resultados obtenidos *in vitro* por Maia *et al.* (2007, 2010) e *in vivo* por Yang *et al.* (2009) apoyarían que, en el presente trabajo, el aceite tuvo un efecto especialmente negativo sobre las bacterias celulolíticas. Por tanto, nuestros resultados sugieren que las bacterias celulolíticas se recuperaron rápidamente tras reducirse la entrada de ácidos grasos insaturados al rumen al cambiar la ración y que fueron relativamente resilientes al aumento de la presencia de aquellos en ambos experimentos. Esto último a pesar de que el mayor contenido de almidón en la ración del experimento 3 (**Tabla 4.4, Figura 5.1**) debió promover un ambiente ruminal más desfavorable para dichas especies bacterianas que en el experimento 4, de acuerdo con las observaciones de Desnoyers *et al.* (2008) y Sun *et al.* (2010). Sin excluir lo anterior, el cambio a la ración sin aceite también pudo causar el cese del efecto inhibitorio sobre la actividad enzimática de la glándula mamaria, propiciado por la mayor disponibilidad de ácidos grasos insaturados de cadena larga en la ubre al consumir las raciones con aceite (Chilliard y Ferlay, 2004). Una parte sustancial de la reducción de la síntesis *de novo* en la glándula mamaria en respuesta al consumo de raciones ricas en ácidos grasos insaturados podría deberse a la competencia entre estos y sus productos intermediarios de la biohidrogenación con los ácidos grasos sintetizados *de novo* por los sitios de esterificación en el glicerol, de forma que la acumulación de los segundos tendría un efecto inhibitorio sobre las enzimas lipogénicas (Palmquist, 2006). Trabajos previos han justificado las variaciones de los contenidos de los ácidos grasos saturados de cadena media en la grasa láctea, observadas entre uno y cuatro días después de cambiar la alimentación -descenso tras cambiar a una alimentación sobre pastos (Biondi *et al.*, 2008; Coppa *et al.*, 2012; Renna *et al.*, 2012) o incluir aceite vegetal en la ración invernal (Soják *et al.*, 2015) y aumento al suprimir la alimentación sobre pastos (Elgersma *et al.*, 2004)-, por la variación en el consumo de ácidos grasos insaturados. Cabe señalar que, a diferencia de nuestros resultados y los de Soják *et al.* (2015), Martínez Marín *et al.* (2013b) observaron en cabras que el cambio a una ración con aceite de lino no redujo el contenido de ácidos grasos saturados de la grasa láctea hasta pasadas 120 horas de iniciado su consumo.

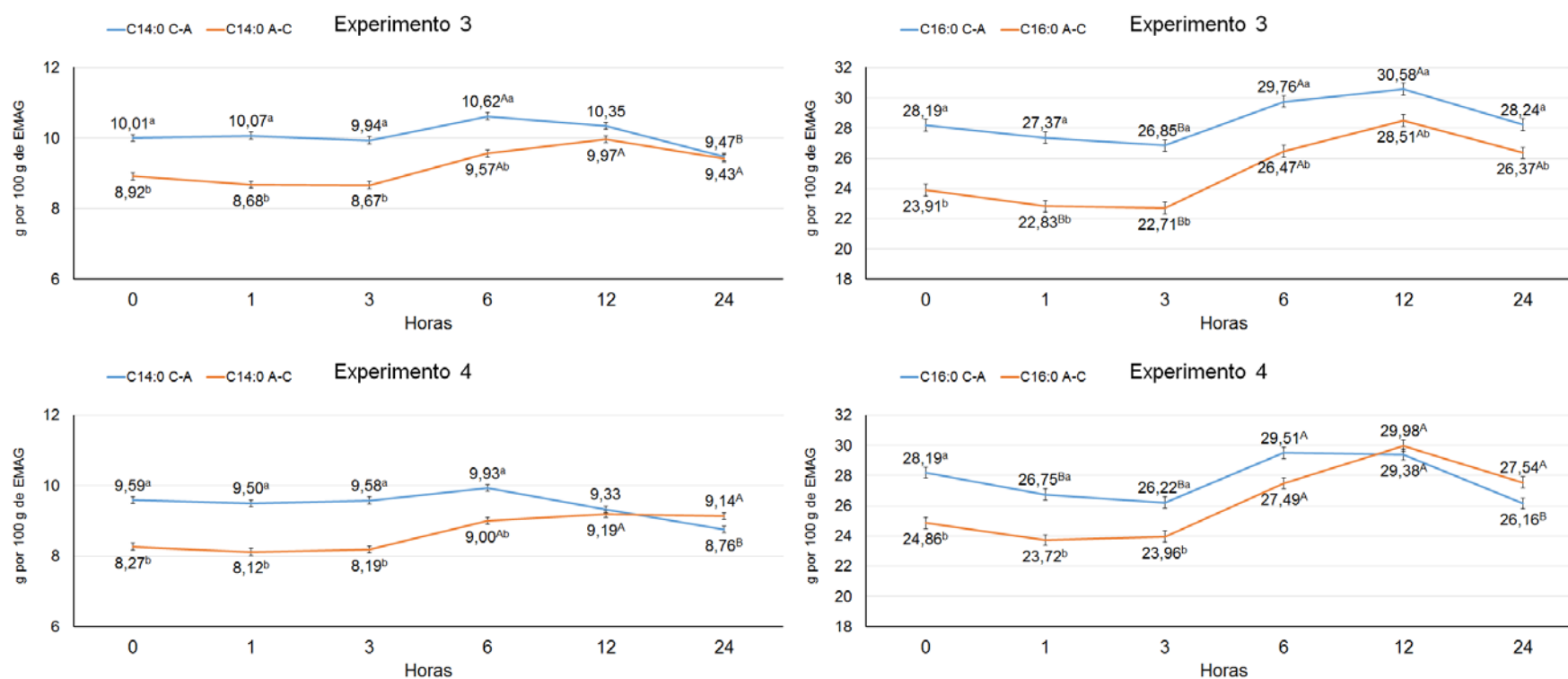


Figura 5.28. Evolución de los contenidos de los ácidos mirístico (C14:0) y palmítico (C16:0) en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4). EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos.

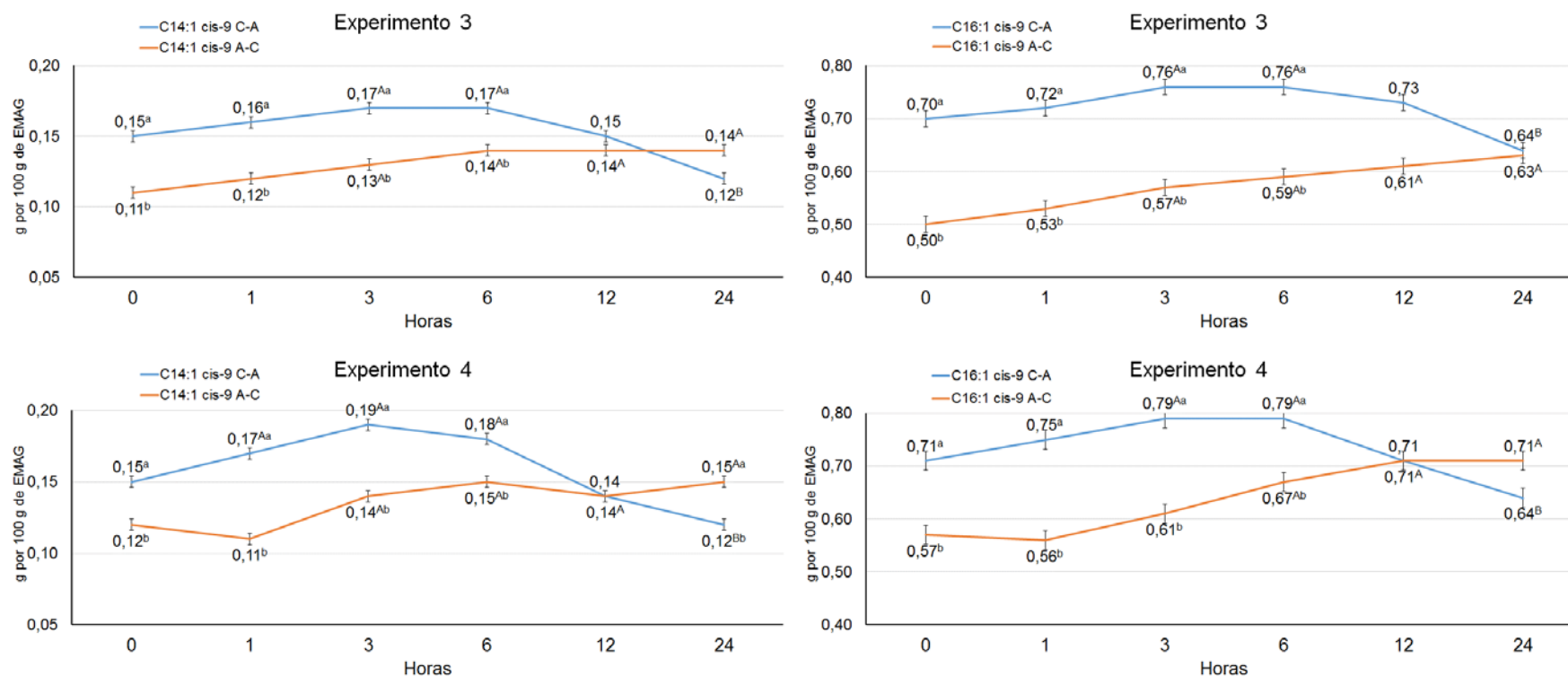


Figura 5.29. Evolución de los contenidos de los ácidos miristoleico (C14:1 *cis*-9) y palmitoleico (C16:1 *cis*-9) en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4). EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos.

Los cambios temporales del contenido de ácido cetoesteárico en la grasa láctea de ambos experimentos (**Tablas 5.16 y 5.17, Figura 5.30**) indicaron una clara relación con el consumo de aceite de lino y una rápida respuesta de las bacterias ruminales a su presencia o ausencia. En ensayos *in vitro* se ha observado que este ácido graso es producido por las bacterias ruminales a partir de ácido oleico vía ácido hidroxisteárico (Jenkins *et al.*, 2006; McKain *et al.*, 2010). Estos autores observaron la aparición de los ácidos hidroxisteárico y cetoesteárico en el medio de cultivo cuando analizaron muestras recogidas tras 24 horas de incubación en presencia de ácido oleico. Nuestros resultados sugieren que la conversión bacteriana del ácido oleico aportado por el aceite a ácido cetoesteárico podría ocurrir mucho antes en el rumen, ya que el incremento de su contenido en la grasa láctea fue cuantificable tan pronto como 12 horas después de suministrar la ración con aceite.

La ausencia de cambios temporales relevantes de los contenidos de los ácidos grasos lineales de cadena impar y los ramificados no terminales en la grasa láctea de ambos experimentos (**Tablas 5.18 a 5.21**) sugieren que la introducción o la retirada del aceite de lino de la ración tuvo pocos efectos a muy corto plazo sobre la disponibilidad de propionato para la síntesis *de novo* en la glándula mamaria y la síntesis bacteriana ruminal, respectivamente (Massart-Leën *et al.*, 1983; Bas *et al.*, 2003; Vlaeminck *et al.*, 2006a; Heck *et al.*, 2012; Vlaeminck *et al.*, 2015). Nuestros resultados coinciden en su mayor parte con los obtenidos por Biondi *et al.* (2008) y Renna *et al.* (2012) al cambiar a los animales a alimentación sobre pastos.

Los contenidos individuales de los ácidos grasos iso y anteiso en la grasa láctea mostraron menos cambios temporales en los tratamientos aceite-control que en los tratamientos control-aceite de ambos experimentos y el número de ellos con cambios significativos fue mayor en el experimento 3 (**Tablas 5.20 y 5.21**). Estos ácidos grasos son casi exclusivamente de origen microbiano (Vlaeminck *et al.*, 2006a; Fievez *et al.*, 2012). Considerados en conjunto, el patrón de los cambios temporales de ambos grupos de ácidos grasos en los tratamientos

control-aceite de ambos experimentos (**Tabla 5.15, Figura 5.25**) reflejaría un rápido efecto negativo del consumo de una ración con aceite sobre las bacterias celulolíticas, acentuado por la presencia elevada de almidón en aquella. Contrariamente a nuestros resultados, Elgersma *et al.* (2004) y Rego *et al.* (2016) observaron una reducción de los contenidos de ácidos grasos ramificados en la grasa láctea de vacas al suprimir la alimentación sobre pastos y un aumento al pasar a esta, respectivamente, lo que sugiere que los ácidos grasos aportados por el pasto y el aceite de lino podrían tener un efecto distinto sobre las bacterias ruminales, probablemente derivado de su diferente forma química de presentación y su accesibilidad para aquellas (Buccioni *et al.*, 2012).

5.3.2.2. Ácidos grasos monoinsaturados

Los contenidos de C14:1 *cis*-9 y C16:1 *cis*-9 en la grasa láctea mostraron un rápido incremento en el tratamiento aceite-control a partir de las hora 3 y una respuesta negativa demorada hasta la hora 24 en el tratamiento control-aceite (**Tablas 5.22 a 5.25, Figura 5.29**). Considerando ambos experimentos, se calculó que los índices de Δ -9 desaturación de C14:0 y C16:0 se redujeron un 13 y 6%, respectivamente, en los tratamientos control-aceite, y aumentaron un 16 y 13%, respectivamente, en los tratamientos aceite-control, a la hora 24 en comparación con la hora 0. La disminución de los contenidos de C14:0 y C16:0 a la hora 24 en los tratamientos control-aceite fue inferior a la de C14:1 *cis*-9 y C16:1 *cis*-9 (7 vs 20% y 3 vs 9%, respectivamente) y el aumento en los tratamientos aceite-control fue mayor en los segundos (8 vs 26% y 10 vs 25%, respectivamente). Por tanto, el cambio de la actividad de la enzima Δ -9 desaturasa no pudo achacarse, al menos en su totalidad, a la disminución o el aumento del sustrato disponible. En ovejas, Biondi *et al.* (2008), Coppa *et al.* (2012) y Soják *et al.* (2015) también observaron un rápido descenso de los contenidos de C14:1 *cis*-9 y C16:1 *cis*-9 en la grasa láctea al alimentar sobre pastos o incluir aceite de girasol y lino en la ración, respectivamente.

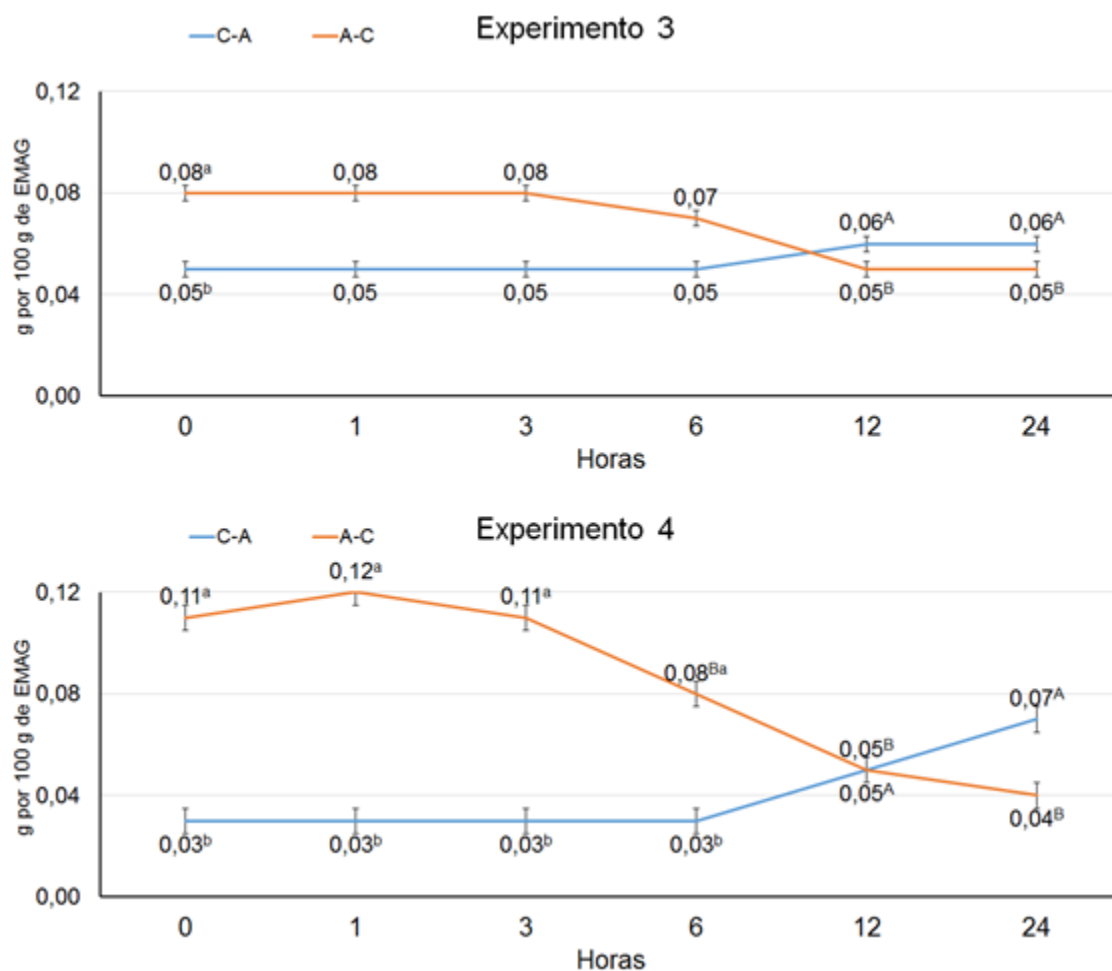


Figura 5.30. Evolución del contenido del ácido cetosteárico en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4). EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos.

En la discusión de los experimentos 1 y 2 se hizo hincapié en la relación entre el consumo de aceite de lino y los contenidos de C16:1 *trans*-9 (el C16:1 más abundante en nuestro experimentos tras C16:1 *cis*-9) y C16:2 en la grasa láctea. Los resultados de los experimentos 3 y 4 apoyarían dicha relación (**Tablas 5.24, 5.25 5.30 y 5.31**). El patrón de cambio temporal de C16:1 *trans*-9 y C16:2 fue prácticamente igual en los tratamientos de ambos experimentos (**Figura 5.31**). A partir de la hora 6 desde el comienzo del consumo de aceite de lino se observó un incremento de los contenidos de ambos ácidos grasos,

mientras que el cese del consumo de aceite ocasionó una disminución de los mismos en la hora 24. Aunque no hemos encontrado trabajos publicados con resultados específicos al respecto, los resultados de Martínez Marín *et al.* (2013a) sugieren que la presencia de C16:2 en la grasa láctea requiere la acción de las bacterias ruminales sobre los ácidos grasos aportados por el aceite de lino. En este sentido, los resultados de los experimentos 3 y 4 indicarían que las bacterias ruminales tienen una pronta respuesta en la producción de C16:1 *trans*-9 y C16:2 ante la disponibilidad de aceite de lino.

Los contenidos de numerosos C18:1 en la grasa láctea mostraron una evolución negativa a partir de la hora 6 tras el inicio del consumo de la ración sin aceite de lino, mientras que la introducción de la ración con aceite no tuvo efectos claros sobre dichos ácidos grasos hasta la hora 24 (**Tablas 5.26 y 5.27**), en coincidencia con Martínez Marín *et al.* (2013b). Por tanto, la respuesta de las bacterias ruminales a la ausencia de aceite en la ración consumida fue más rápida que al aumento de su disponibilidad, pero no se pudo identificar un efecto debido al tipo de carbohidratos mayoritarios en el concentrado de la ración. En algunos ácidos grasos que se pueden relacionar específicamente con el consumo de aceite de lino, como C18:1 *cis*-14, C18:1 *cis*-15, C18:1 *trans*-13/*trans*-14 (Martínez Marín *et al.*, 2015a), el patrón de cambio temporal llevó a que los contenidos observados en el tratamiento control-aceite a la hora 24 fueran prácticamente iguales que los observados a la hora 0 en el tratamiento aceite-control y viceversa. Estos cambios apoyarían que dichos ácidos grasos son productos intermediarios de la biohidrogenación ruminal del ácido α -linolénico.

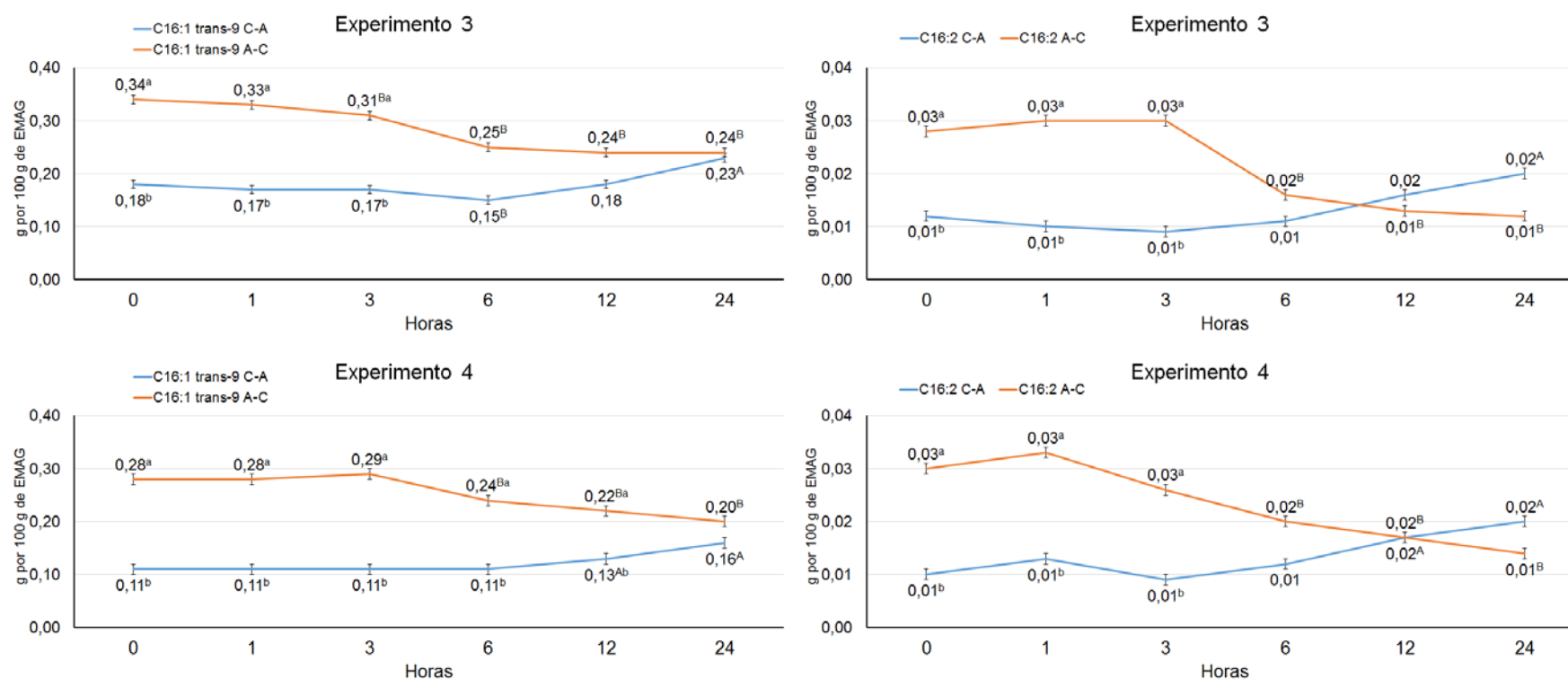


Figura 5.31. Evolución de los contenidos de los ácidos C16:1 *trans*-9 y C16:2 en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4). EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos.

El contenido de ácido vaccénico en la grasa láctea también mostró rápidos cambios ante la presencia o ausencia de aceite en la ración (**Figura 5.32**) en coincidencia con las observaciones de Martínez Marín *et al.* (2013b) en cabras, y Soják *et al.* (2015) en ovejas. Martínez Marín *et al.* (2013b) observaron un 170% de incremento del contenido de ácido vaccénico en la grasa láctea respecto a la ración control pasadas 24 horas de incluir el aceite de lino en la ración. Elgersma *et al.* (2004) y Khanal *et al.* (2008) reportaron caídas del 60 y 50% del contenido de ácido vaccénico en la grasa láctea tras dos días y al día siguiente, respectivamente, de retirar a las vacas del pasto, mientras que Rego *et al.* (2016) observaron un brusco descenso o incremento en los primeros cinco días tras retirar las vacas de los pastos o introducirlas en los mismos, respectivamente.

El hecho de que las bacterias ruminales muestren una rápida respuesta al aumento de la presencia de ácidos grasos insaturados en la ración consumida podría explicarse por una disposición permanente de aquellas para biohidrogenarlos, porque dichos ácidos grasos se encuentran habitualmente presentes, en cantidades más o menos importantes, en los alimentos consumidos por los rumiantes (Fievez *et al.*, 2007), y la biohidrogenación es un rápido y efectivo mecanismo de defensa del que disponen las bacterias para hacer frente a sus efectos tóxicos (Maia *et al.*, 2007, 2010). Por otra parte, la rápida caída de los contenidos de los productos intermediarios de la biohidrogenación ruminal en la grasa láctea tras reducirse el consumo de ácidos grasos insaturados se debería a la disminución de la cantidad de sustrato disponible para la biohidrogenación (Elgersma *et al.*, 2004; Khanal *et al.* 2008; Rego *et al.*, 2016). Ello indicaría que es necesario un aporte sostenido de ácidos grasos insaturados en la ración para mantener los contenidos de los ácidos grasos intermediarios de la biohidrogenación por encima de ciertos valores en la grasa láctea.

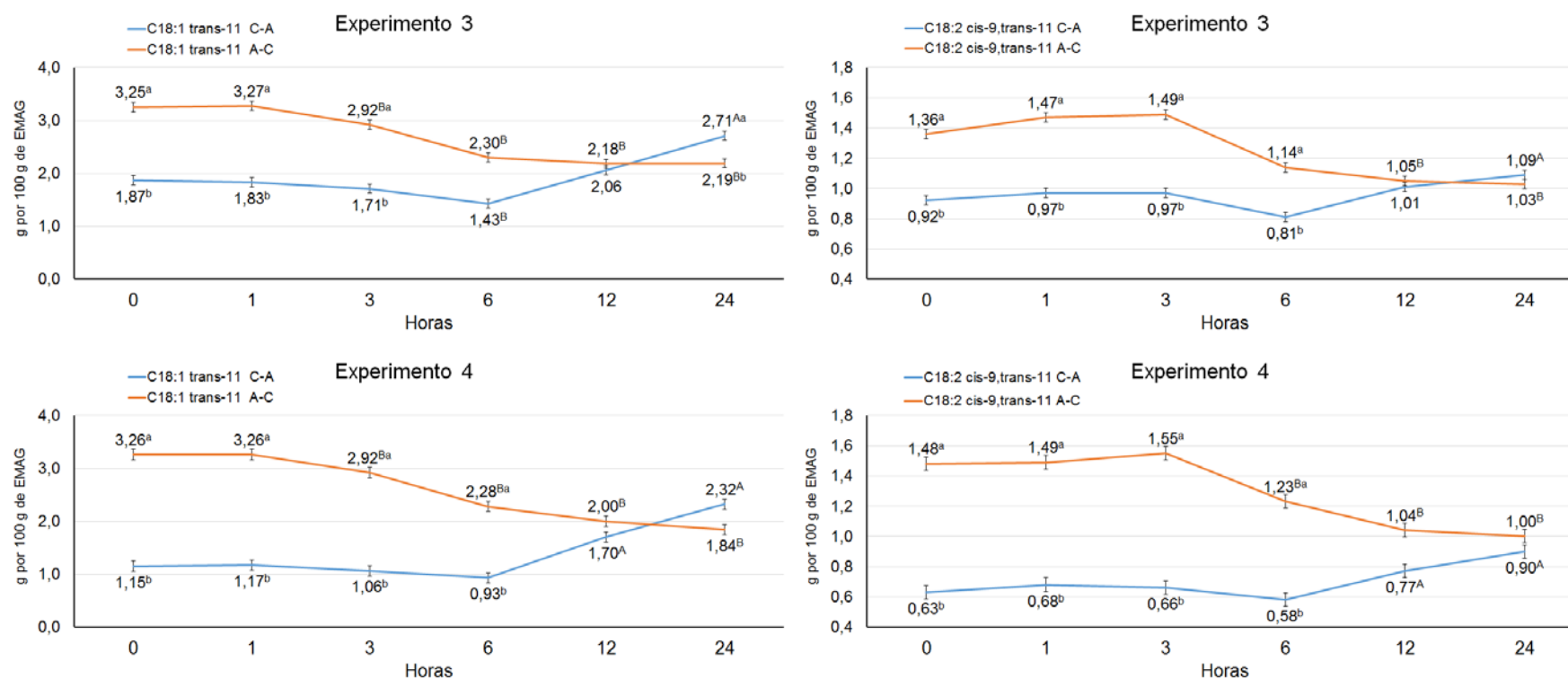


Figura 5.32. Evolución de los contenidos de los ácidos vaccénico (C18:1 *trans*-11) y ruménico (C18:2 *cis*-9,*trans*-11) en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4). EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos.

5.3.2.3. Ácidos grasos poliinsaturados

Los contenidos de los C18:2 no conjugados en la grasa láctea mostraron más cambios temporales que los de los C18:2 conjugados, y hubo más de estos que tuvieron cambios en el experimento 4 que en el experimento 3 (**Tablas 5.28 y 5.29**). La mayoría de los C18:2 no conjugados que pueden relacionarse específicamente con el ácido α -linolénico aportado por el aceite de lino, es decir, aquellos con un doble enlace en las posiciones 13 a 16 así como C18:2 *trans*-9,*cis*-12 (Martínez Marín *et al.*, 2015a), mostraron una reducción de sus contenidos a partir de la hora 6 -a la hora 3 en algunos casos- en el tratamiento aceite-control y un aumento entre las horas 12 y 24 en el tratamiento control-aceite, en comparación con la hora 0. Es destacable que el contenido de C18:2 *trans*-11,*cis*-15 fuera mayor en el tratamiento control-aceite que en el tratamiento aceite-control de ambos experimentos a la hora 24, lo que en el caso de C18:2 *trans*-10,*cis*-15 solamente se observó en el experimento 4. Es generalmente aceptado que C18:2 *trans*-11,*cis*-15 es un producto intermedio en la ruta principal de biohidrogenación ruminal del ácido α -linolénico (Harfoot y Hazlewood, 1997; Shingfield y Wallace, 2014), en tanto que C18:2 *trans*-10,*cis*-15 lo sería en una ruta secundaria que ocurriría cuando las condiciones ruminales están alteradas (Griinari y Bauman, 1999). Por tanto, los resultados obtenidos indicarían que, si bien las condiciones ruminales pudieron estar más alteradas en el experimento 3 debido a la mayor riqueza de almidón en la ración (Desnoyers *et al.*, 2008; Sun *et al.* 2010), ello no pareció promover una conversión mayor de ácido α -linolénico a C18:2 *trans*-10,*cis*-15 en relación con la conversión a C18:2 *trans*-11,*cis*-15 (**Figura 5.33**).

El ácido ruménico fue el único C18:2 conjugado cuyo contenido en la grasa láctea manifestó una evolución similar en ambos experimentos, si bien los cambios fueron algo más tempranos en el experimento 4, y en el mismo sentido que los cambios observados en los contenidos del ácido vaccénico (**Tablas 5.28 y 5.29, Figura 5.32**).

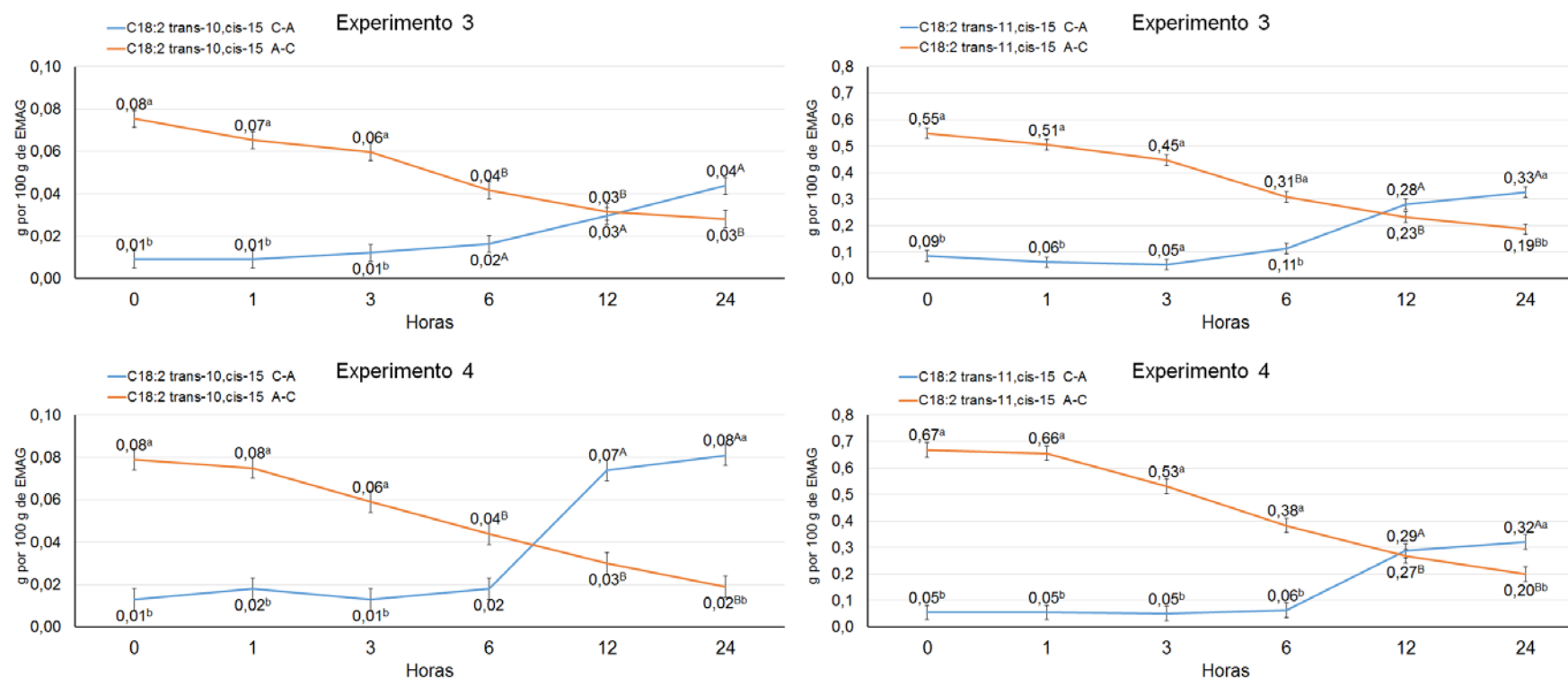


Figura 5.33. Evolución de los contenidos de los ácidos C18:2 *trans*-10,*cis*-15 y C18:2 *trans*-11,*cis*-15 en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4). EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos.

En coincidencia con nuestros resultados, Martínez Marín *et al.* (2013b) y Soják *et al.* (2015) también encontraron un aumento simultáneo de los contenidos de los ácidos vaccénico y ruménico entre las horas 12 y 24 y pasadas 24 horas, respectivamente, después de suministrar una ración con aceite de lino. Khanal *et al.* (2008) encontraron en vacas que la disminución brusca del consumo de ácido α -linolénico (paso de alimentación sobre pasto a ración completa mezclada) redujo un 66% el contenido de ácido linoleico conjugado de la grasa láctea en tan solo 24 horas, mientras que el aumento de su contenido en respuesta al cambio inverso de la ración fue mucho más progresivo. Igualmente, Elgersma *et al.* (2004) y Rego *et al.* (2016) reportaron una brusca caída del contenido de ácido ruménico en la grasa láctea de vacas dos días después de suprimir la alimentación sobre pastos.

La evolución de los contenidos de los ácidos C18:3 en la grasa láctea fue similar en ambos experimentos (**Tablas 5.30 y 5.31**). El ácido α -linolénico mostró una pronta respuesta decreciente en los tratamientos aceite-control, mientras que la respuesta creciente observada en los tratamientos control-aceite se demoró en ambos experimentos hasta la hora 12 (**Figura 5.34**). Estos resultados coinciden con los de Martínez Marín *et al.* (2013b) quienes encontraron cambios significativos relevantes respecto al tratamiento control tras 12 horas de suministrar una ración con aceite de lino. En general, los resultados de trabajos previos indican un rápido incremento del contenido de ácido α -linolénico en la grasa láctea tras suministrar una alimentación rica en dicho ácido graso (Biondi *et al.*, 2008; Khanal *et al.*, 2008; Coppa *et al.* 2012; Renna *et al.*, 2012; Martínez Marín *et al.*, 2013b; Soják *et al.* 2015; Rego *et al.*, 2016) y un brusco descenso tras retirar dicha alimentación (Khanal *et al.*, 2008). Los aumentos del contenido de ácido α -linolénico en la grasa láctea observados en nuestro trabajo y en trabajos previos están en desacuerdo con los modelos desarrollados por Moate *et al.* (2004) y Harvatine y Allen (2006, que predicen una baja o nula posibilidad de que el ácido α -linolénico pueda escapar a la biohidrogenación ruminal y llegar en cantidades apreciables al intestino.

Los contenidos de C18:3 *cis*-9,*trans*-12,*cis*-15 y C18:3 *trans*-9,*cis*-12,*cis*-15 mostraron respuestas negativas a la retirada del aceite de lino de la ración y positivas a su inclusión (**Tablas 5.30 y 5.31**). Dado que estos ácidos grasos se encontraban presentes en el aceite (**Tabla 4.2**), los cambios observados podrían relacionarse con su origen dietético más que ruminal. La única referencia que hemos encontrado sobre dichos ácidos grasos es su cuantificación en el contenido duodenal de vacas cuya ración incluyó aceite de lino (Loor *et al.*, 2004).

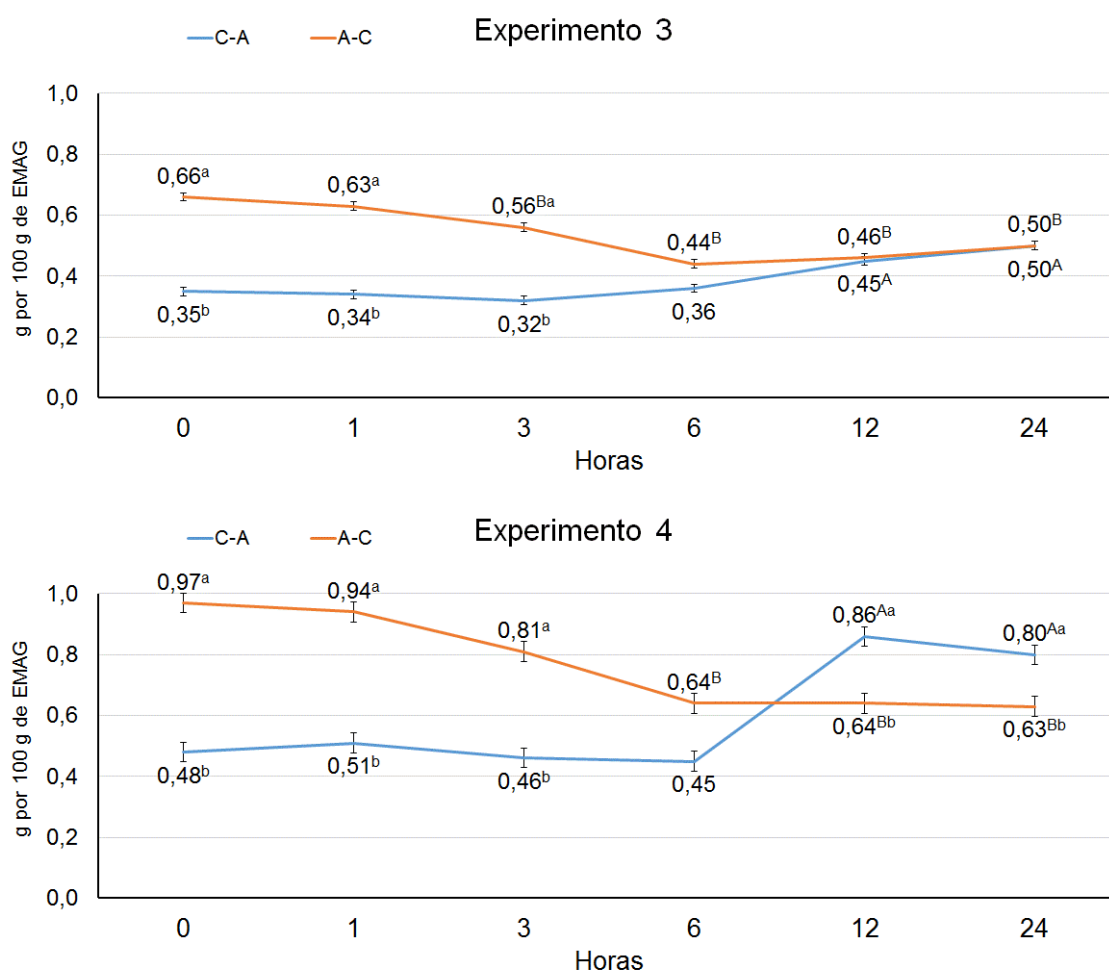


Figura 5.34. Evolución de los contenidos de ácido α -linolénico en la grasa láctea de cabras tras cambiar de una ración sin aceite a otra con aceite de lino (C-A) y viceversa (A-C), cuando el concentrado de la misma fue rico en almidón (Experimento 3) o fibra neutro detergente (Experimento 4). EMAG: ésteres metílicos de ácidos grasos.

Los resultados obtenidos muestran que el cese de los efectos de la presencia de aceite de lino en la ración consumida por las cabras sobre la biohidrogenación ruminal y la actividad enzimática de la glándula mamaria puede reflejarse en los contenidos de los ácidos grasos de la leche a partir de seis horas, e incluso antes en algunos casos, tras el cambio de la ración. Por el contrario, la mayoría de las respuestas tras el cambio a una ración con aceite de lino son cuantificables a partir de 12 horas. En definitiva, tanto las bacterias ruminales como la glándula mamaria parecen disponer de una rápida capacidad de respuesta a las variaciones en la disponibilidad de ácidos grasos insaturados de cadena larga por cambios en la composición de la ración suministrada a los animales.

6. CONCLUSIONES

1ª) El tipo de carbohidratos mayoritarios en el concentrado de la ración y la inclusión de aceite de lino en la misma no tienen efectos relevantes sobre los resultados productivos ni la composición de leche, ni resultan perjudiciales para las pautas de consumo de las cabras.

2ª) Globalmente, los contenidos de los ácidos grasos en la grasa láctea de cabras responden de forma diferente en función de los carbohidratos del concentrado y la presencia de aceite de lino en la ración. El aceite de lino modifica el perfil de ácidos grasos de la leche en el mismo sentido con independencia de los carbohidratos del concentrado, pero los cambios son relativamente mayores cuando el concentrado es rico en fibra neutro detergente.

3ª) Cuando la ración no contiene aceite de lino, un concentrado rico en almidón determina que la grasa láctea tenga menores contenidos de ácidos grasos impares y ramificados y mayores contenidos de C18:1 *trans* y C18:2 conjugados.

4ª) El aceite de lino, independientemente del tipo de carbohidratos del concentrado, contribuye a mejorar la calidad nutricional de la grasa láctea en cabras: reduce los ácidos grasos saturados de cadena media, mejora los contenidos de omega-3, incrementa el nivel de ácido ruménico y disminuye los índices de aterogenicidad y omega-6/omega-3.

5ª) Una fracción relevante de los contenidos de C17:0 iso y C17:0 anteiso en la grasa láctea de cabras deriva de la elongación de C15:0 iso y C15:0 anteiso en los tejidos.

6ª) Independientemente del tipo de ración, este estudio confirma que la mayor parte del ácido ruménico de la leche de cabra procede de la Δ -9 desaturación del ácido vaccénico en la glándula mamaria.

7ª) El contenido de C18:2 *trans*-10,*cis*-15 en la grasa láctea está directamente relacionado con la presencia de aceite de lino en la ración y la respuesta observada es independiente del contenido de C18:1 *trans*-10.

8ª) La composición de la grasa láctea varía de forma importante en las primeras 24 horas tras reemplazar una ración con aceite de lino por otra sin aceite lino o viceversa. El tipo de carbohidratos mayoritarios en el concentrado no tiene un efecto apreciable sobre dichos cambios.

9ª) La retirada del aceite de lino de la ración ocasiona un aumento de los contenidos de los ácidos grasos saturados de cadena media y una disminución de los contenidos de los ácidos vaccénico, ruménico, α -linolénico y rumelénico en la grasa láctea, y la mayoría de los cambios se observan transcurridas seis horas. El cambio a una ración con aceite de lino resulta en respuestas de signo opuesto de los contenidos de dichos ácidos grasos y los cambios se observan generalmente a partir de 12 horas.

10ª) Los cambios de los contenidos de ciertos ácidos grasos impares y ramificados en la grasa láctea son indicadores fiables de las diferencias en la composición de la ración y sus posibles efectos sobre el ambiente ruminal: el aumento de los contenidos de C14:0 iso y C17:0 anteiso es indicativo de raciones ricas en fibra neutro detergente y almidón, respectivamente, mientras que el incremento de C17:0+C17:1 *cis*-9 contribuiría a identificar a las raciones enriquecidas en aceite de lino.

7. RESUMEN

La revisión de la literatura mostró que la interacción entre la composición del concentrado de la ración y la inclusión en esta de fuentes de grasa ricas en ácidos grasos omega-3 no ha sido estudiada en cabras lecheras. Por ello, los objetivos planteados en la presente Tesis fueron: i) investigar los resultados productivos y la composición de la grasa láctea de cabras cuando el concentrado suministrado es rico en almidón o fibra neutro detergente y se incluye aceite de lino en la ración (experimentos 1 y 2); ii) estudiar las variaciones a muy corto plazo de la composición de la grasa láctea tras la inclusión o la retirada del aceite de lino en la ración cuando el concentrado es rico en almidón o fibra neutro detergente (experimentos 3 y 4). En comparación con la literatura, una característica singular de nuestros trabajos experimentales fue el empleo de raciones con igual proporción forraje, pero cuyos concentrados tuvieron diferentes proporciones de fibra neutro detergente y almidón. Los resultados de los experimentos 1 y 2 mostraron que los parámetros productivos no se vieron afectados de forma relevante por los tratamientos. Se observaron efectos específicos de la composición del concentrado y la adición de aceite de lino a la ración sobre el perfil de ácidos grasos de la leche, así como diferencias en las respuestas al aceite en función del tipo de concentrado. El aceite de lino tuvo un efecto positivo sobre las cualidades saludables de la grasa láctea. Los resultados de los experimentos 3 y 4 mostraron que el cese de los efectos de la presencia de aceite de lino en la ración consumida por las cabras sobre la biohidrogenación ruminal y la actividad enzimática de la glándula mamaria se reflejó en los contenidos de los ácidos grasos de la leche generalmente a partir de seis horas, e incluso antes en algunos casos, tras el cambio de la ración. Por el contrario, la mayoría de las respuestas tras el cambio a una ración con aceite de lino fueron cuantificables a partir de 12 horas. En conclusión, la composición del concentrado y la inclusión de aceite de lino en la ración de cabras afectan a la composición de la grasa láctea. La magnitud de la respuesta al aceite está modulada por el tipo de concentrado. Las bacterias ruminales y la glándula mamaria parecen disponer de una rápida capacidad de respuesta a las variaciones en la disponibilidad de ácidos grasos insaturados de cadena larga por cambios en la composición de la ración suministrada a los animales.

8. SUMMARY

Literature review showed that there is no currently information on the interaction between the composition of the concentrate fed to dairy goats and the inclusion of omega-3 fatty acid sources in their diet. Therefore, the aims of the present Thesis were: i) to investigate the effects of feeding dairy goats a concentrate rich in either starch or neutral detergent fiber when the diet includes or not linseed oil on the productive performance, as well as the milk fat composition (experiments 1 & 2); ii) to gain insight into the short-term time-dependent changes in milk fat composition after introducing or suppressing linseed oil in the diet when the concentrate is rich in either starch or neutral detergent fiber (experiments 3 & 4). The most remarkable fact of our experimental design, compared with previous published research, was that all the diets had the same level of forage, but the concentrates greatly differed in their contents of starch and neutral detergent fiber. The results obtained in the experiments 1 & 2 showed that the treatments had no effect on the productive performance. However, both the type of concentrate and the linseed oil supplementation had specific effects on the milk fatty acid profile. Moreover, the observed responses to the linseed oil supplementation were partially dependent on the type of concentrate. The inclusion of linseed oil in the diet had positive effects on the composition of milk fat from a human health point of view. The results obtained in the experiments 3 & 4 showed that the effects on ruminal biohydrogenation and mammary gland metabolism due the consumption of a diet enriched with linseed oil would start to arise as early as six hours after ceasing it. On the contrary, most of the responses to introducing linseed oil in the diet were only apparent after 12 hours of its consumption. In conclusion, the composition of the concentrate and the inclusion of linseed oil in the diet affect the milk fat composition in dairy goats. The extent of the response to the linseed oil supplementation was modulated by the kind of concentrate. From our results, it seems that the rumen bacteria and the mammary gland have the ability of fast adaptation to alterations in the availability of unsaturated fatty acids due to changes in the composition of the diet fed to the animals.

9. BIBLIOGRAFIA

Abe, A., & Sugiyama, K. (2005). Growth inhibition and apoptosis induction of human melanoma cells by omega-hydroxy fatty acids. *Anti-Cancer Drugs*, 16(5), 543-549.

AbuGhazaleh, A. A., Riley, M. B., Thies, E. E., & Jenkins, T. C. (2005). Dilution rate and pH effects on the conversion of oleic acid to *trans* C18:1 positional isomers in continuous culture. *Journal of Dairy Science*, 88(12), 4334-4341.

Aguilera, J. F., & Prieto, C. (1991). Methane production in goats given diets based on lucerne hay and barley. *Archives of Animal Nutrition*, 41(1), 77-84.

Akraim, F., Nicot, M. C., Juaneda, P., & Enjalbert, F. (2007). Conjugated linolenic acid (CLnA), conjugated linoleic acid (CLA) and other biohydrogenation intermediates in plasma and milk fat of cows fed raw or extruded linseed. *Animal*, 1(6), 835-843.

Alonso, L., Fontecha, J., Lozada, L., Fraga, M. J., & Juárez, M. (1999). Fatty acid composition of caprine milk: major, branched-chain, and *trans* fatty acids. *Journal of Dairy Science*, 82(5), 878-884.

Álvarez, S., Fresno, M., Méndez, P., Castro, N., Fernández, J. R., & Sanz Sampelayo, M. R. (2007). Alternatives for improving physical, chemical, and sensory characteristics of goat cheeses: The use of arid-land forages in the diet. *Journal of Dairy Science*, 90(5), 2181-2188.

Alves, S. P., & Bessa, R.J.B. (2014). The *trans*-10, *cis*-15 18: 2: a missing intermediate of *trans*-10 shifted rumen biohydrogenation pathway. *Lipids*, 49(6), 527-541.

AOAC. (2006). Official methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. 18th ed. 1st rev. AOAC Int., Gaithersburg, MD.

Archimède, H., Sauvant, D., Hervieu, J., Ternois, F., & Poncet, C. (1996). Effects of the nature of roughage and concentrate and their proportion on ruminal characteristics of non lactating goats, consequences on digestive interactions. *Animal Feed Science and Technology*, 58(3), 267-282.

Astrup, A., Dyerberg, J., Elwood, P., Hermansen, K., Hu, F. B., Jakobsen, M. U., Kok, F.J., Krauss, R.M., Lecerf, J.M., LeGrand, P., Nestel, P., Risérus, U., Sanders, T., Sinclair, A., Stender, S., Tholstrup, T. & Willett, W. C. (2011). The role of reducing intakes of saturated fat in the prevention of cardiovascular disease: where does the evidence stand in 2010? *American Journal of Clinical Nutrition*, 93(4), 684-688.

Bach-Faig, A., Berry, E. M., Lairon, D., Reguant, J., Trichopoulou, A., Dernini, S., Medina, X., Battino, M., Belahsen, R., Miranda, G., & Serra-Majem, L. (2011). Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. *Public Health Nutrition*, 14(12A), 2274-2284.

Baldwin, R. L., & Allison, M. J. (1983). Rumen metabolism. *Journal of Animal Science*, 57(Supplement 2), 461-477

Barber, M. C., Clegg, R. A., Travers, M. T., & Vernon, R. G. (1997). Lipid metabolism in the lactating mammary gland. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 1347(2), 101-126.

Barlowska, J., Sz wajkowska, M., Litwińczuk, Z., & Król, J. (2011). Nutritional value and technological suitability of milk from various animal species used for dairy production. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(6), 291-302.

Bas, P., Archimede, H., Rouzeau, A., & Sauvant, D. (2003). Fatty acid composition of mixed-rumen bacteria: effect of concentration and type of forage. *Journal of Dairy Science*, 86(9), 2940-2948.

Bauchart, D., Legay-Carmier, F., Doreau, M., & Gaillard, B. (1990). Lipid metabolism of liquid-associated and solid-adherent bacteria in rumen contents of dairy cows offered lipid-supplemented diets. *British Journal of Nutrition*, 63(03), 563-578.

Baum, S. J., Kris-Etherton, P. M., Willett, W. C., Lichtenstein, A. H., Rudel, L. L., Maki, K. C., Whelan, J., Ramsden, C.E., & Block, R. C. (2012). Fatty acids in cardiovascular health and disease: a comprehensive update. *Journal of Clinical Lipidology*, 6(3), 216-234.

Bauman, D. E., & Davis, C. L. (1974). Biosynthesis of milk fat. In: *Lactation: A Comprehensive Treatise*, Volume 2; Larson, B. L. and Smith V. R. (eds.); Academic Press, New York, USA; pp. 31-75.

Benchaa, C., Pomar, C., & Chiquette, J. (2001). Evaluation of dietary strategies to reduce methane production in ruminants: a modelling approach. *Canadian Journal of Animal Science*, 81(4), 563-574.

Benchaa, C., Romero-Pérez, G. A., Chouinard, P. Y., Hassanat, F., Eugene, M., Petit, H. V., & Côrtes, C. (2012). Supplementation of increasing amounts of linseed oil to dairy cows fed total mixed rations: Effects on digestion, ruminal fermentation characteristics, protozoal populations, and milk fatty acid composition. *Journal of Dairy Science*, 95(8), 4578-4590.

Benjamin, S., & Spener, F. (2009). Conjugated linoleic acids as functional food: an insight into their health benefits. *Nutrition & Metabolism*, 6(36), 1-13.

Bergman, E. N. (1990). Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological Reviews*, 70(2), 567-590.

Bernard, L., Rouel, J., Leroux, C., Ferlay, A., Faulconnier, Y., Legrand, P., & Chilliard, Y. (2005). Mammary lipid metabolism and milk fatty acid secretion in alpine goats fed vegetable lipids. *Journal of Dairy Science*, 88(4), 1478-1489.

Bernard, L., Leroux, C., & Chilliard, Y. (2008). Expression and nutritional regulation of lipogenic genes in the ruminant lactating mammary gland. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 606, 67-108.

Bernard, L., Bonnet, M., Leroux, C., Shingfield, K. J., & Chilliard, Y. (2009a). Effect of sunflower-seed oil and linseed oil on tissue lipid metabolism, gene expression, and milk fatty acid secretion in alpine goats fed maize silage-based diets. *Journal of Dairy Science*, 92(12), 6083-6094.

Bernard, L., Leroux, C., Faulconnier, Y., Durand, D., Shingfield, K. J., & Chilliard, Y. (2009b). Effect of sunflower-seed oil or linseed oil on milk fatty acid secretion and lipogenic gene expression in goats fed hay-based diets. *Journal of Dairy Research*, 76(02), 241-248.

Bernard, L., Shingfield, K. J., Rouel, J., Ferlay, A., & Chilliard, Y. (2009c). Effect of plant oils in the diet on performance and milk fatty acid composition in goats fed diets based on grass hay or maize silage. *British Journal of Nutrition*, 101(2), 213-224.

Bernard, L., Mourirot, J., Rouel, J., Glasser, F., Capitan, P., Pujos-Guillot, E., Chardigny, J.M., & Chilliard, Y. (2010). Effects of fish oil and starch added to a diet containing sunflower-seed oil on dairy goat performance, milk fatty acid composition and in vivo $\Delta 9$ -desaturation of [13 C] vaccenic acid. *British Journal of Nutrition*, 104(03), 346-354.

Bernard, L., Leroux, C., Rouel, J., Bonnet, M., & Chilliard, Y. (2012). Effect of the level and type of starchy concentrate on tissue lipid metabolism, gene

expression and milk fatty acid secretion in Alpine goats receiving a diet rich in sunflower-seed oil. *British Journal of Nutrition*, 107(08), 1147-1159.

Bernard, L., Leroux, C., & Chilliard, Y. (2013a). Expression and nutritional regulation of stearoyl-CoA desaturase genes in the ruminant mammary gland: Relationship with milk fatty acid composition. In: *Stearoyl-CoA desaturase genes in lipid metabolism*; Ntambi, J.M. (ed.); Springer, New York, USA; pp. 161-193.

Bernard, L., Torbati, M. B. M., Graulet, B., Leroux, C., & Chilliard, Y. (2013b). Long-chain fatty acids differentially alter lipogenesis in bovine and caprine mammary slices. *Journal of Dairy Research*, 80(01), 89-95.

Bernard, L., Leroux, C., Rouel, J., Delavaud, C., Shingfield, K. J., & Chilliard, Y. (2015). Effect of extruded linseeds alone or in combination with fish oil on intake, milk production, plasma metabolite concentrations and milk fatty acid composition in lactating goats. *Animal*, 9(05), 810-821.

Bessa, R. J. B., Maia, M. R. G., Jerónimo, E., Belo, A. T., Cabrita, A. R. J., Dewhurst, R. J., & Fonseca, A. J. M. (2009). Using microbial fatty acids to improve understanding of the contribution of solid associated bacteria to microbial mass in the rumen. *Animal Feed Science and Technology*, 150(3), 197-206.

Bhagwat, A. M., De Baets, B., Steen, A., Vlaeminck, B., & Fievez, V. (2012). Prediction of ruminal volatile fatty acid proportions of lactating dairy cows based on milk odd-and branched-chain fatty acid profiles: New models, better predictions. *Journal of Dairy Science*, 95(7), 3926-3937.

Bichi, E., Toral, P. G., Hervás, G., Frutos, P., Gómez-Cortés, P., Juárez, M., & De la Fuente, M. A. (2012). Inhibition of Δ 9-desaturase activity with sterculic acid: Effect on the endogenous synthesis of cis-9 18: 1 and cis-9, trans-11 18: 2 in dairy sheep. *Journal of Dairy Science*, 95(9), 5242-5252.

Bichi, E., Frutos, P., Toral, P. G., Keisler, D., Hervás, G., & Llor, J. J. (2013). Dietary marine algae and its influence on tissue gene network expression during milk fat depression in dairy ewes. *Animal Feed Science and Technology*, 186(1), 36-44.

Bickerstaffe, R., Noakes, D. E., & Annison, E. F. (1972). Quantitative aspects of fatty acid biohydrogenation, absorption and transfer into milk fat in the lactating goat, with special reference to the *cis*- and *trans*-isomers of octadecenoate and linoleate. *Biochemical Journal*, 130(2), 607-617.

Biondi, L., Valvo, M. A., Di Gloria, M., Tenghi, E. S., Galofaro, V., & Priolo, A. (2008). Changes in ewe milk fatty acids following turning out to pasture. *Small Ruminant Research*, 75(1), 17-23.

Blaxter, K. L., & Clapperton, J. L. (1965). Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *British Journal of Nutrition*, 19(01), 511-522.

Bodas, R., Prieto, N., García-González, R., Andrés, S., Giráldez, F. J., & López, S. (2012). Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Animal Feed Science and Technology*, 176 (1), 78-93.

Boeckaert, C., Vlaeminck, B., Fievez, V., Maignien, L., Dijkstra, J., & Boon, N. (2008). Accumulation of *trans* C18: 1 fatty acids in the rumen after dietary algal supplementation is associated with changes in the *Butyrivibrio* community. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(22), 6923-6930.

Buccioni, A., Decandia, M., Minieri, S., Molle, G., & Cabiddu, A. (2012). Lipid metabolism in the rumen: New insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. *Animal Feed Science and Technology*, 174(1), 1-25.

Burns, T. A., Kadegowda, A. K. G., Duckett, S. K., Pratt, S. L., & Jenkins, T. C. (2012). Palmitoleic (16: 1 *cis*-9) and *cis*-vaccenic (18: 1 *cis*-11) acid alter lipogenesis in bovine adipocyte cultures. *Lipids*, 47(12), 1143-1153.

Cai, Q., Huang, H., Qian, D., Chen, K., Luo, J., Tian, Y., Lin, T., & Lin, T. (2013). 13-Methyltetradecanoic acid exhibits anti-tumor activity on T-cell lymphomas *in vitro* and *in vivo* by down-regulating p-AKT and activating caspase-3. *PloS One*, 8(6), e65308.

Cantalapiedra-Hijar, G., Yáñez-Ruiz, D. R., Martín-García, A. I., & Molina-Alcaide, E. (2009). Effects of forage: concentrate ratio and forage type on apparent digestibility, ruminal fermentation, and microbial growth in goats. *Journal of Animal Science*, 87(2), 622-631.

Casali, E., Gesmundo, N., Farruggia, G., Spisni, A., & Masotti, L. (1994). Hydroxystearic acid effects on CDC2 histone H1 kinase-activity in C108 carcinoma-cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 203(3), 1385-1391.

Chilliard, Y., Ferlay, A., Mansbridge, R. M., & Doreau, M. (2000). Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, *trans* and conjugated fatty acids. *Annales de Zootechnie*, 49(3), 181-205.

Chilliard, Y., Ferlay, A., & Doreau, M. (2001). Contrôle de la qualité nutritionnelle des matières grasses du lait par l'alimentation des vaches laitières: acides gras *trans*, polyinsaturés, acide linoléique conjugué. *Productions Animales*, 14(5), 323-335.

Chilliard, Y., Ferlay, A., Rouel, J., & Lamberet, G. (2003). A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *Journal of Dairy Science*, 86(5), 1751-1770.

Chilliard, Y., & Ferlay, A. (2004). Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reproduction Nutrition Development*, 44(5), 467-492.

Chilliard, Y., Rouel, J., Guillouet, P., Raynal-Ljutovac, K., Leloutre, L., & Ferlay, A. (2005). Kinetics of responses of goat milk fatty acids to dietary forage: concentrate ratio and/or high doses of sunflower or linseed oil, or extruded mixture of seeds. In: *Book of Abstracts, 56th Annual Meeting of European Association for Animal Production*; Wageningen Academic Publishers, Uppsala, Sweden; pp. 5-8.

Chilliard, Y., Rouel, J., & Leroux, C. (2006). Goat's alpha-s1 casein genotype influences its milk fatty acid composition and delta-9 desaturation ratios. *Animal Feed Science and Technology*, 131(3), 474-487.

Chilliard, Y., Martin, C., Rouel, J., & Doreau, M. (2009). Milk fatty acids in dairy cows fed whole crude linseed, extruded linseed, or linseed oil, and their relationship with methane output. *Journal of Dairy Science*, 92(10), 5199-5211.

Chilliard, Y., Toral, P. G., Shingfield, K. J., Rouel, J., Leroux, C., & Bernard, L. (2014). Effects of diet and physiological factors on milk fat synthesis, milk fat composition and lipolysis in the goat: A short review. *Small Ruminant Research*, 122(1), 31-37.

Cívico, A., Núñez, N., Gómez-Cortés, P., Peña, F., De la Fuente, M. A., Juárez, M., Martínez, A. L. (2016). Comunicación breve: Estudio del origen del ácido ruménico presente en la grasa láctea de cabras mediante un modelo de regresión lineal. *Revista Científica de LUZ*. Aceptado para publicación.

Collomb, M., Sieber, R., & Bütikofer, U. (2004). CLA isomers in milk fat from cows fed diets with high levels of unsaturated fatty acids. *Lipids*, 39(4), 355-364.

Colman, E., Fokkink, W. B., Craninx, M., Newbold, J. R., De Baets, B., & Fievez, V. (2010). Effect of induction of subacute ruminal acidosis on milk fat profile and rumen parameters. *Journal of Dairy Science*, 93(10), 4759-4773.

Coppa, M., Gorlier, A., Lonati, M., Martin, B., Russo, E. M., & Lombardi, G. (2012). The management of the transition from hay-to pasture-based diets affects milk fatty acid kinetics. *Dairy Science & Technology*, 92(3), 279-295.

Corl, B. A., Baumgard, L. H., Griinari, J. M., Delmonte, P., Morehouse, K. M., Yurawecz, M. P., & Bauman, D. E. (2002). Trans-7, cis-9 CLA is synthesized endogenously by delta9-desaturase in dairy cows. *Lipids*, 37, 681–688.

Côrtes, C., Kazama, R., da Silva-Kazama, D., Benchaar, C., Zeoula, L. M., Santos, G. T., & Petit, H. V. (2011). Digestion, milk production and milk fatty acid profile of dairy cows fed flax hulls and infused with flax oil in the abomasum. *Journal of Dairy Research*, 78(03), 293-300.

Cozma, A., Miere, D., Filip, L., Andrei, S., Roxana, B. A. N. C., & Loghin, F. (2013). A review of the metabolic origins of milk fatty acids. *Notulae Scientia Biologicae*, 5(3), 270-274.

Craninx, M., Beeckman, A., Van Laar, H., Martin-Tereso, J., & Fievez, V. (2007). Diagnosis of acidosis in dairy cattle using milk fatty acid profiles. *Journal of Animal Science*, 85 (Suppl. 1), 560-561 (Abstr).

Craninx, M., Fievez, V., Vlaeminck, B., & De Baets, B. (2008a). Artificial neural network models of the rumen fermentation pattern in dairy cattle. *Computers and Electronics in Agriculture*, 60(2), 226-238.

Craninx, M., Steen, A., Van Laar, H., Van Nespen, T., Martin-Tereso, J., De Baets, B., & Fievez, V. (2008b). Effect of lactation stage on the odd-and

branched-chain milk fatty acids of dairy cattle under grazing and indoor conditions. *Journal of Dairy Science*, 91(7), 2662-2677.

Criscioni, P., & Fernández, C. (2016). Effect of rice bran as a replacement for oat grain in energy and nitrogen balance, methane emissions, and milk performance of Murciano-Granadina goats. *Journal of Dairy Science*, 99(1), 280-290.

Croom, W. J., Bauman, D. E., & Davis, C. L. (1981). Methylmalonic acid in low-fat milk syndrome. *Journal of Dairy Science*, 64(4), 649-654.

Cruz-Hernandez, C., Kramer, J. K. G., Kennelly, J. J., Glimm, D. R., Sorensen, B. M., Okine, E. K., Goonewardene, L. A., & Weselake, R. J. (2007). Evaluating the conjugated linoleic acid and *trans* 18: 1 isomers in milk fat of dairy cows fed increasing amounts of sunflower oil and a constant level of fish oil. *Journal of Dairy Science*, 90(8), 3786-3801.

De la Fuente, M. A., Ramos, M., Recio, I., & Juárez, M. (2013). Sheep milk. In: *Milk and Dairy Products in Human Nutrition*; Park, Y. W. and Haenlein, G. F. W. (eds.); Wiley-Blackwell, Oxford, UK; pp. 554-577.

De la Fuente, M. A., Rodríguez-Pino, V., & Juárez, M. (2015). Use of an extremely polar 100-m column in combination with a cyanoalkyl polysiloxane column to complement the study of milk fats with different fatty acid profiles. *International Dairy Journal*, 47, 52-63.

Deckelbaum, R. J., & Torrejon, C. (2012). The ω -3 fatty acid nutritional landscape: health benefits and sources. *Journal of Nutrition*, 142(3), 587S-591S.

Degen, C., Ecker, J., Piegholdt, S., Liebisch, G., Schmitz, G., & Jahreis, G. (2011). Metabolic and growth inhibitory effects of conjugated fatty acids in the cell line HT-29 with special regard to the conversion of t11, t13-CLA. *Biochimica*

et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids, 1811(12), 1070-1080.

Demeyer, D. I., Henderson, C., & Prins, R. A. (1978). Relative significance of exogenous and *de novo* synthesized fatty acids in the formation of rumen microbial lipids *in vitro*. Applied and Environmental Microbiology, 35(1), 24-31.

Desnoyers, M., Duvaux-Ponter, C., Rigalma, K., Roussel, S., Martin, O., & Giger-Reverdin, S. (2008). Effect of concentrate percentage on ruminal pH and time-budget in dairy goats. Animal, 2(12), 1802-1808.

Destailats, F., Wolff, R. L., Precht, D., & Molkentin, J. (2000). Study of individual *trans*- and *cis*-16: 1 isomers in cow, goat, and ewe cheese fats by gas-liquid chromatography with emphasis on the *trans*- Δ^3 isomer. Lipids, 35(9), 1027-1032.

Destailats, F., Trottier, J. P., Galvez, J. G., & Angers, P. (2005). Analysis of α -linolenic acid biohydrogenation intermediates in milk fat with emphasis on conjugated linolenic acids. Journal of Dairy Science, 88(9), 3231-3239.

Devle, H., Vetti, I., Naess-Andresen, C. F., Rukke, E. O., Vegarud, G., & Ekeberg, D. (2012). A comparative study of fatty acid profiles in ruminant and non-ruminant milk. European Journal of Lipid Science and Technology, 114(9), 1036-1043.

Dewhurst, R. J., Moorby, J. M., Vlaeminck, B., & Fievez, V. (2007). Apparent recovery of duodenal odd-and branched-chain fatty acids in milk of dairy cows. Journal of Dairy Science, 90(4), 1775-1780.

Dhiman, T. R., Satter, L. D., Pariza, M. W., Galli, M. P., Albright, K., & Tolosa, M. X. (2000). Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered

diets rich in linoleic and linolenic acid. *Journal of Dairy Science*, 83(5), 1016-1027.

Dijkstra, J., Van Zijderveld, S. M., Apajalahti, J. A., Bannink, A., Gerrits, W. J. J., Newbold, J. R., Perdok, H. B., & Berends, H. (2011). Relationships between methane production and milk fatty acid profiles in dairy cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 166, 590-595.

Drackley, J. K., Overton, T. R., Ortiz-Gonzalez, G., Beaulieu, A. D., Barbano, D. M., Lynch, J. M., & Perkins, E. G. (2007). Responses to increasing amounts of high-oleic sunflower fatty acids infused into the abomasum of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90(11), 5165-5175.

Elgersma, A., Ellen, G., Van der Horst, H., Boer, H., Dekker, P. R., & Tamminga, S. (2004). Quick changes in milk fat composition from cows after transition from fresh grass to a silage diet. *Animal Feed Science and Technology*, 117(1), 13-27.

FAOSTAT. (2013). Livestock Primary [Consulta: 15/05/2015] Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/569/DesktopDefault.aspx?PageID=569#ancor>

FEDNA, Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (2016). Tablas de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Madrid, España.

Field, C. J., Blewett, H. H., Proctor, S., & Vine, D. (2009). Human health benefits of vaccenic acid. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 34(5), 979-991.

Fievez, V., Vlaeminck, B., Dhanoa, M. S., & Dewhurst, R. J. (2003). Use of principal component analysis to investigate the origin of heptadecenoic and conjugated linoleic acids in milk. *Journal of Dairy Science*, 86(12), 4047-4053

Fievez, V., Vlaeminck, B., Jenkins, T., Enjalbert, F., & Doreau, M. (2007). Assessing rumen biohydrogenation and its manipulation *in vivo*, *in vitro* and *in situ*. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(8), 740-756.

Fievez, V., Colman, E., Castro-Montoya, J. M., Stefanov, I., & Vlaeminck, B. (2012). Milk odd-and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function—An update. *Animal Feed Science and Technology*, 172(1), 51-65.

Flachowsky, G., Erdmann, K., Hüther, L., Jahreis, G., Möckel, P., & Lebzien, P. (2006). Influence of roughage/concentrate ratio and linseed oil on the concentration of *trans*-fatty acids and conjugated linoleic acid in duodenal chyme and milk fat of late lactating cows. *Archives of Animal Nutrition*, 60(6), 501-511.

Fontecha, J., Ríos, J. J., Lozada, L., Fraga, M. J., & Juárez, M. (2000). Composition of goat's milk fat triglycerides analysed by silver ion adsorption-TLC and GC–MS. *International Dairy Journal*, 10(1), 119-128.

Fontecha, J., Goudjil, H., Ríos, J. J., Fraga, M. J., & Juárez, M. (2005). Identity of the major triacylglycerols in ovine milk fat. *International Dairy Journal*, 15(12), 1217-1224.

Fraga, M. J., Fontecha, J., Lozada, L., & Juárez, M. (1998). Silver ion adsorption thin layer chromatography and capillary gas chromatography in the study of the composition of milk fat triglycerides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1836-1843.

French, E. A., Bertics, S. J., & Armentano, L. E. (2012). Rumen and milk odd-and branched-chain fatty acid proportions are minimally influenced by ruminal volatile fatty acid infusions. *Journal of Dairy Science*, 95(4), 2015-2026.

Gallier, S., Gragson, D., Cabral, C., Jiménez-Flores, R., & Everett, D. W. (2010). Composition and fatty acid distribution of bovine milk phospholipids from processed milk products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(19), 10503-10511.

Giger-Reverdin, S., Rigalma, K., Desnoyers, M., Sauvant, D., & Duvaux-Ponter, C. (2014). Effect of concentrate level on feeding behavior and rumen and blood parameters in dairy goats: Relationships between behavioral and physiological parameters and effect of between-animal variability. *Journal of Dairy Science*, 97(7), 4367-4378.

Glasser, F., Doreau, M., Ferlay, A., & Chilliard, Y. (2007). Technical note: Estimation of milk fatty acid yield from milk fat data. *Journal of Dairy Science*, 90(5), 2302-2304.

Glasser, F., Ferlay, A., & Chilliard, Y. (2008a). Oilseed lipid supplements and fatty acid composition of cow milk: a meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 91(12), 4687-4703.

Glasser, F., Ferlay, A., Doreau, M., Schmidely, P., Sauvant, D., & Chilliard, Y. (2008b). Long-chain fatty acid metabolism in dairy cows: A meta-analysis of milk fatty acid yield in relation to duodenal flows and *de novo* synthesis. *Journal of Dairy Science*, 91(7), 2771-2785.

Glasser, F., Doreau, M., Maxin, G., & Baumont, R. (2013). Fat and fatty acid content and composition of forages: a meta-analysis. *Animal Feed Science and Technology*, 185(1), 19-34.

Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Mantecón, A. R., Juárez, M., De la Fuente, M. A., & Hervás, G. (2008). Milk production, conjugated linoleic acid content, and *in vitro* ruminal fermentation in response to high levels of soybean oil in dairy ewe diet. *Journal of Dairy Science*, 91(4), 1560-1569.

Gómez-Cortés, P., Bach, A., Luna, P., Juárez, M., & De la Fuente, M. A. (2009a). Effects of extruded linseed supplementation on n-3 fatty acids and conjugated linoleic acid in milk and cheese from ewes. *Journal of Dairy Science*, 92(9), 4122-4134.

Gómez-Cortés, P., Tyburczy, C., Brenna, J. T., Juárez, M., & de la Fuente, M. A. (2009b). Characterization of *cis*-9 *trans*-11 *trans*-15 C18: 3 in milk fat by GC and covalent adduct chemical ionization tandem MS. *Journal of Lipid Research*, 50(12), 2412-2420.

Gómez-Cortés, P., De la Fuente, M. A., Toral, P. G., Frutos, P., Juárez, M., & Hervás, G. (2011). Effects of different forage: concentrate ratios in dairy ewe diets supplemented with sunflower oil on animal performance and milk fatty acid profile. *Journal of Dairy Science*, 94(9), 4578-4588.

Gordon, M. H. (2013). Milk lipids. In: *Milk and Dairy Products in Human Nutrition*; Park, Y. W. and Haenlein, G. F. W. (eds.); Wiley-Blackwell, Oxford, UK; pp. 65-79.

Grainger, C., & Beauchemin, K. A. (2011). Can enteric methane emissions from ruminants be lowered without lowering their production?. *Animal Feed Science and Technology*, 166, 308-320.

Grandeau, L. (1876). *Instruction pratique sur le calcul des rations alimentaires des animaux de la ferme*. Librairie Agricole de la Maison Rustique, París, Francia.

Griinari, J., & Bauman, D. E. (1999). Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research Vol. 1*; Yurawecz, M. P., Mossoba, M. M., Kramer, J. K.

G., Pariza, M. W., Nelson, G. J. (eds.); AOCS Press, Champaign, Illinois, USA; pp. 180–200.

Ha, Y.L., Grimm, N.K., & Pariza, M.W. (1989). Newly recognized anticarcinogenic fatty-acids - identification and quantification in natural and processed cheeses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37(1), 75-81.

Ha, J. K., & Lindsay, R. C. (1993). Release of volatile branched-chain and other fatty acids from ruminant milk fats by various lipases. *Journal of Dairy Science*, 76(3), 677-690.

Hansen, H. O., & Knudsen, J. (1987a). Effect of exogenous long-chain fatty acids on lipid biosynthesis in dispersed ruminant mammary gland epithelial cells: esterification of long-chain exogenous fatty acids. *Journal of Dairy Science*, 70(7), 1344-1349.

Hansen, H. O., & Knudsen, J. (1987b). Effect of exogenous long-chain fatty acids on individual fatty acid synthesis by dispersed ruminant mammary gland cells. *Journal of Dairy Science*, 70(7), 1350-1354.

Harfoot, C. G., & Hazlewood, G. P. (1997) Lipid metabolism in the rumen. In: *The Rumen Microbial Ecosystem*; Hobson, P. N., Stewart, C. S. (eds.); Springer, Netherlands; pp 382–426.

Harvatine, K. J., & Allen, M. S. (2006). Fat supplements affect fractional rates of ruminal fatty acid biohydrogenation and passage in dairy cows. *Journal of Nutrition*, 136(3), 677-685.

Heck, J. M., van Valenberg, H. J., Bovenhuis, H., Dijkstra, J., & van Hooijdonk, T. (2012). Characterization of milk fatty acids based on genetic and herd parameters. *Journal of Dairy Research*, 79(01), 39-46.

Hennessy, A. A., Ross, R. P., Devery, R., & Stanton, C. (2011). The health promoting properties of the conjugated isomers of α -linolenic acid. *Lipids*, 46(2), 105-119.

Hervás, G., Luna, P., Mantecón, Á. R., Castañares, N., de la Fuente, M. A., Juárez, M., & Frutos, P. (2008). Effect of diet supplementation with sunflower oil on milk production, fatty acid profile and ruminal fermentation in lactating dairy ewes. *Journal of Dairy Research*, 75(04), 399-405.

Hodgson, J. M., Wahlqvist, M. L., Boxall, J. A., & Balazs, N. D. (1996). Platelet *trans* fatty acids in relation to angiographically assessed coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 120(1), 147-154.

Honkanen, A. M., Griinari, J. M., Vanhatalo, A., Ahvenjärvi, S., Toivonen, V., & Shingfield, K. J. (2012). Characterization of the disappearance and formation of biohydrogenation intermediates during incubations of linoleic acid with rumen fluid *in vitro* 1. *Journal of Dairy Science*, 95(3), 1376-1394.

Honkanen, A.M., Leskinen, H., Toivonen, V., McKain, N., Wallace, R.J., & Shingfield, K.J. (2016). Metabolism of α -linolenic acid during incubations with strained bovine rumen contents: products and mechanisms. *British Journal of Nutrition*, 115(12), 2093-2105.

Ibáñez, C., López, M. C., Criscioni, P., & Fernández, C. (2015a). Effect of replacing dietary corn with beet pulp on energy partitioning, substrate oxidation and methane production in lactating dairy goats. *Animal Production Science*, 55(1), 56-63.

Ibáñez, C., Moya, V. J., Arriaga, H., López, D. M., Merino, P., & Fernández, C. (2015b). Replacement of cereal with low starch fibrous by-products on nutrients utilization and methane emissions in dairy goats. *Open Journal of Animal Sciences*, 5(02), 198-209.

INRA, Institut National de la Recherche Agronomique. (2002). Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage. Editorial INRA, Paris.

INRA, Institut National de la Recherche Agronomique. (2007). Alimentation des ruminants. Editorial Quae, Paris.

Ipharraguerre, I. R., & Clark, J. H. (2003). Soyhulls as an alternative feed for lactating dairy cows: a review. *Journal of Dairy Science*, 86(4), 1052-1073.

ISO, International Organization for Standardization. (2000). Animal feedingstuffs. Determination of starch content - Polarimetric method. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

ISO-IDF, International Organization for Standardization - International Dairy Federation (2002a) Milk fat - Preparation of fatty acid methyl esters. International Standard ISO 15884-IDF 182: 2002. International Dairy Federation, Brussels, Belgium.

ISO-IDF, International Organization for Standardization - International Dairy Federation. (2002b). Milk fat - Determination of the fatty acid composition by gas-liquid chromatography. International Standard ISO 15885-IDF 184: 2002. International Dairy Federation, Brussels, Belgium.

Jenkins, T. C., AbuGhazaleh, A. A., Freeman, S., & Thies, E. J. (2006). The production of 10-hydroxystearic and 10-ketostearic acids is an alternative route of oleic acid transformation by the ruminal microbiota in cattle. *Journal of Nutrition*, 136(4), 926-931.

Jenkins, B., West, J. A., & Koulman, A. (2015). A review of odd-chain fatty acid metabolism and the role of pentadecanoic acid (C15:0) and

heptadecanoic acid (C17: 0) in health and disease. *Molecules*, 20(2), 2425-2444.

Jeong, W. Y., Yi, O. H., Choi, H. J., Nam, K. T., Kim, B. G., & Lee, S. R. (2012). Effects of dietary vegetable oils on intake, digestibility and methane emission from black goats. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11(24), 4689-4692.

Jouany, J. P., Lassalas, B., Doreau, M., & Glasser, F. (2007). Dynamic features of the rumen metabolism of linoleic acid, linolenic acid and linseed oil measured *in vitro*. *Lipids*, 42(4), 351-360.

Kadegowda, A. K. G., Burns, T. A., Miller, M. C., & Duckett, S. K. (2013). -9,-11 conjugated linoleic acid is endogenously synthesized from palmitelaidic (C16: 1-9) acid in bovine adipocytes. *Journal of Animal Science*, 91(4), 1614-1623.

Kazama, R., Côrtes, C., da Silva-Kazama, D., Gagnon, N., Benchaar, C., Zeoula, L. M., Santos G. T. D., & Petit, H. V. (2010). Abomasal or ruminal administration of flax oil and hulls on milk production, digestibility, and milk fatty acid profile of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93(10), 4781-4790.

Kellner, O. (1910). *The scientific feeding of animals*. The Macmillan Company, New York, USA.

Kelsey, J. A., Corl, B. A., Collier, R. J., & Bauman, D. E. (2003). The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86(8), 2588-2597.

Khanal, R. C., Dhiman, T. R., & Boman, R. L. (2008). Changes in fatty acid composition of milk from lactating dairy cows during transition to and from pasture. *Livestock Science*, 114(2), 164-175.

Khiaosa-ard, R., Kreuzer, M., & Leiber, F. (2015). Apparent recovery of C18 polyunsaturated fatty acids from feed in cow milk: A meta-analysis of the importance of dietary fatty acids and feeding regimens in diets without fat supplementation. *Journal of Dairy Science*, 98(9), 6399-6414.

Kris-Etherton, P. M., Griel, A. E., Psota, T. L., Gebauer, S. K., Zhang, J., & Etherton, T. D. (2005). Dietary stearic acid and risk of cardiovascular disease: intake, sources, digestion, and absorption. *Lipids*, 40(12), 1193-1200.

Lee, Y. J., & Jenkins, T. C. (2011). Biohydrogenation of linolenic acid to stearic acid by the rumen microbial population yields multiple intermediate conjugated diene isomers. *Journal of Nutrition*, 141(8), 1445-1450.

Lerch, S., Shingfield, K. J., Ferlay, A., Vanhatalo, A., & Chilliard, Y. (2012). Rapeseed or linseed in grass-based diets: Effects on conjugated linoleic and conjugated linolenic acid isomers in milk fat from Holstein cows over 2 consecutive lactations. *Journal of Dairy Science*, 95(12), 7269-7287.

Li, X. Z., Yan, C. G., Long, R. J., Jin, G. L., Khuu, J. S., Ji, B. J., Choi, S. H., Lee, H. G., & Song, M. K. (2009). Conjugated linoleic acid in rumen fluid and milk fat, and methane emission of lactating goats fed a soybean oil-based diet supplemented with sodium bicarbonate and monensin. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 22(11), 1521-1530.

Li, X. Z., Yan, C. G., Lee, H. G., Choi, C. W., & Song, M. K. (2012). Influence of dietary plant oils on mammary lipogenic enzymes and the conjugated linoleic acid content of plasma and milk fat of lactating goats. *Animal Feed Science and Technology*, 174(1), 26-35.

Li, F., Li, Z., Li, S., Ferguson, J., Cao, Y., Yao, J., Sun, F., Wang, X., & Yang, T. (2014a). Effect of dietary physically effective fiber on ruminal fermentation and

the fatty acid profile of milk in dairy goats. *Journal of Dairy Science*, 97(4), 2281-2290.

Li, F., Yang, X. J., Cao, Y. C., Li, S. X., Yao, J. H., Li, Z. J., & Sun, F. F. (2014b). Effects of dietary effective fiber to rumen degradable starch ratios on the risk of sub-acute ruminal acidosis and rumen content fatty acids composition in dairy goat. *Animal Feed Science and Technology*, 189, 54-62.

Lim, J. N., Oh, J. J., Wang, T., Lee, J. S., Kim, S. H., Kim, Y. J., & Lee, H. G. (2014). Trans-11 18: 1 vaccenic acid (TVA) has a direct anti-carcinogenic effect on MCF-7 human mammary adenocarcinoma cells. *Nutrients*, 6(2), 627-636.

Littell, R.C., Stroup, W.W., & Freund, R.J. (2002). *SAS for Linear Models*, 4th ed., SAS Institute, Inc., Cary, NC.

Littell, R. C., Stroup, W. W., Milliken, G. A., Wolfinger, R. D., & Schabenberger, O. (2006). *SAS for mixed models* 2nd ed. SAS Institute Inc., Cary NC.

Lock, A. L., Givens, D. I., & Bauman, D. E. (2014). Dairy Fat: Perceptions and realities. In: *Milk and Dairy Products as Functional Foods*; Kanekanian, A., (ed.); John Wiley & Sons, Ltd; Chichester, UK; pp. 174-197.

Loor, J. J., Ueda, K., Ferlay, A., Chilliard, Y., & Doreau, M. (2004). Biohydrogenation, duodenal flow, and intestinal digestibility of *trans* fatty acids and conjugated linoleic acids in response to dietary forage: concentrate ratio and linseed oil in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87(8), 2472-2485.

Loor, J. J., Ueda, K., Ferlay, A., Chilliard, Y., & Doreau, M. (2005). Intestinal flow and digestibility of *trans* fatty acids and conjugated linoleic acids (CLA) in dairy cows fed a high-concentrate diet supplemented with fish oil, linseed oil, or sunflower oil. *Animal Feed Science and Technology*, 119(3), 203-225.

Lourenço, M., Ramos-Morales, E., & Wallace, R. J. (2010). The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. *Animal*, 4(07), 1008-1023.

Luna, P., Juárez, M., & De la Fuente, M. A. (2005). Validation of a rapid milk fat separation method to determine the fatty acid profile by gas chromatography. *Journal of Dairy Science*, 88(10), 3377-3381.

Luna, P., Bach, A., Juárez, M., & De la Fuente, M. A. (2008). Influence of diets rich in flax seed and sunflower oil on the fatty acid composition of ewes' milk fat especially on the level of conjugated linoleic acid, n-3 and n-6 fatty acids. *International Dairy Journal*, 18(1), 99-107.

Luna, P., Rodríguez-Pino, V., & De la Fuente, M. A. (2009). Occurrence of C16: 1 isomers in milk fats from ewes fed with different dietary lipid supplements. *Food Chemistry*, 117(2), 248-253.

MacGibbon, A. K. H., & Taylor, M. W. (2006). Composition and structure of bovine milk lipids. In: *Advanced Dairy Chemistry*, volume 2, 3rd edition; Fox, P.F. and McSweeney, P.L.H. eds.; Springer, New York, USA; pp. 1-42.

Machmüller, A., & Kreuzer, M. (1999). Methane suppression by coconut oil and associated effects on nutrient and energy balance in sheep. *Canadian Journal of Animal Science*, 79(1), 65-72.

MAGRAMA. (2013). Caracterización del sector ovino y caprino en España. Año 2013. Documento elaborado por la Subdirección General de Productos Ganaderos del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Disponible en <http://www.magrama.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos>.

Maia, M. R., Chaudhary, L. C., Figueres, L., & Wallace, R. J. (2007). Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 91(4), 303-314.

Maia, M. R., Chaudhary, L. C., Bestwick, C. S., Richardson, A. J., McKain, N., Larson, T. R., Graham, I. A., & Wallace, R. J. (2010). Toxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, *Butyrivibrio fibrisolvens*. *BMC Microbiology*, 10(1), 1-10.

Márquez-Ruiz, G., Rodríguez-Pino, V., & de la Fuente, M. A. (2011). Determination of 10-hydroxystearic, 10-ketostearic, 8-hydroxypalmitic, and 8-ketopalmitic acids in milk fat by solid-phase extraction plus gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Dairy science*, 94(10), 4810-4819.

Martin, S. A., & Jenkins, T. C. (2002). Factors affecting conjugated linoleic acid and C fatty acid production by mixed ruminal bacteria. *Journal of Animal Science*, 80(12), 3347-3352.

Martin, C., Rouel, J., Jouany, J. P., Doreau, M., & Chilliard, Y. (2008). Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil. *Journal of Animal Science*, 86(10), 2642-2650.

Martin, C., Morgavi, D. P., & Doreau, M. (2010). Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. *Animal*, 4(03), 351-365.

Martínez Marín, A. L., Pérez Hernández, M., Pérez Alba, L., & Gómez Castro, G. (2010a). Digestión de los lípidos en los rumiantes: una revisión. *Interciencia*, 35(4), 240-246.

Martínez Marín, A. L., Pérez Hernández, M., Pérez Alba, L., Gómez Castro, G., & Carrión Pardo, D. (2010b). Metabolismo de los lípidos en los rumiantes. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 11(8), 1-21.

Martínez Marín, A. L., Gómez-Cortés, P., Gómez Castro, G., Juárez, M., Pérez Alba, L., Pérez Hernández, M., & De la Fuente, M. A. (2011a). Animal performance and milk fatty acid profile of dairy goats fed diets with different unsaturated plant oils. *Journal of Dairy Science*, 94(11), 5359-5368.

Martínez Marín, A. L., Pérez Hernández, M., Pérez Alba, L. M., Gómez-Castro, A. G., & Carrión-Pardo, D. (2011b). Efecto de las fuentes de grasa sobre la digestión de la fibra en los rumiantes. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 12(7).

Martínez Marín, A. L., Gómez-Cortés, P., Gómez Castro, G., Juárez, M., Pérez Alba, L., Pérez Hernández, M., & De la Fuente, M. A. (2012). Effects of feeding increasing dietary levels of high oleic or regular sunflower or linseed oil on fatty acid profile of goat milk. *Journal of Dairy Science*, 95(4), 1942-1955.

Martínez Marín, A. L., Gómez-Cortés, P., Carrión Pardo, D., Núñez Sánchez, N., Gómez Castro, A. G., Juárez, M., Pérez Alba, L. M., Pérez Hernández, M., & de la Fuente, M. A. (2013a). Short communication: Feeding linseed oil to dairy goats with competent reticular groove reflex greatly increases n-3 fatty acids in milk fat. *Journal of Dairy Science*, 96(12), 7532-7537.

Martínez Marín, A. L., Gómez-Cortés, P., Gómez Castro, G., Juárez, M., Pérez Alba, L., Pérez Hernández, M., & De la Fuente, M. A. (2013b). Time-dependent variations in milk fatty acid content of goats fed 3 different plant oils. *Journal of Dairy Science*, 96(5), 3238-3246.

Martínez Marín, A. L., Gómez-Cortés, P., Pérez Alba, L. M., Juárez, M., Gómez Castro, A. G., Pérez Hernández, M., & De la Fuente, M. A. (2013c). Adición de aceites vegetales a la dieta de cabras lecheras: efecto sobre el contenido de ácidos grasos de la grasa láctea. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 45(3), 259-266.

Martínez Marín, A. L., Pérez Hernández, M., Pérez Alba, L., M., Carrión Pardo, D., Garzón Sigler, A. I., & Gómez Castro, G. (2013d). Fat addition in the diet of dairy ruminants and its effects on productive parameters. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 26(2), 69-78.

Martínez Marín, A. L., Pérez Hernández, M., Carrión Pardo, D., Gómez Castro, G., Garzón Sigler, A. I. (2013e). Efecto de los aceites y semillas en dietas para rumiantes sobre el perfil de ácidos grasos de la leche. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 4(3), 319-338.

Martínez Marín, A. L., Gómez-Cortés, P., Núñez Sánchez, N., Juárez, M., Garzón Sigler, A. I., Blanco, F. P., & de la Fuente, M. A. (2015a). Associations between major fatty acids in plant oils fed to dairy goats and C18 isomers in milk fat. *Journal of Dairy Research*, 82(02), 152-160.

Martínez Marín, A. L., Núñez Sánchez, N., Garzón Sigler, A. I., & Peña Blanco, F. (2015b). Relationships between the daily intake of unsaturated plant lipids and the contents of major milk fatty acids in dairy goats. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 13(2).

Martínez Marín, A. L., Núñez Sánchez, N., Garzón Sigler, A. I., Peña Blanco, F., Domenech García, V., & Hernández Ruipérez, F. (2015c). Metaanálisis del uso de semillas y aceites en la dieta de ovejas y cabras. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 50(9), 821-828.

Martínez Marín A. L., Núñez Sánchez N., Pavón Vijande R., Gómez Díaz R., Peña Blanco F., & García Martínez A. (2016). Relación entre el consumo de grasas vegetales insaturadas y el contenido de ácidos grasos de la leche de ovejas. *Archivos de Zootecnia*, 65(251): 297-301.

Massart-Leën, A. M., & Massart, D. L. (1981). The use of clustering techniques in the elucidation or confirmation of metabolic pathways Application to the

branched-chain fatty acids present in the milk fat of lactating goats. *Biochemical Journal*, 196(2), 611-618.

Massart-Leën, A. M., De Pooter, H., Decloedt, M., & Schamp, N. (1981). Composition and variability of the branched-chain fatty acid fraction in the milk of goats and cows. *Lipids*, 16(5), 286-292.

Massart-Leën, A. M., Roets, E., Peeters, G., & Verbeke, R. (1983). Propionate for fatty acid synthesis by the mammary gland of the lactating goat. *Journal of Dairy Science*, 66(7), 1445-1454.

McAllister, T. A., Okine, E. K., Mathison, G. W., & Cheng, K. J. (1996). Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*, 76(2), 231-244.

McKain, N., Shingfield, K. J., & Wallace, R. J. (2010). Metabolism of conjugated linoleic acids and 18: 1 fatty acids by ruminal bacteria: products and mechanisms. *Microbiology*, 156(2), 579-588.

Mele, M., Serra, A., Buccioni, A., Conte, G., Pollicardo, A., & Secchiari, P. (2008). Effect of soybean oil supplementation on milk fatty acid composition from Saanen goats fed diets with different forage: concentrate ratios. *Italian Journal of Animal Science*, 7(3), 297-312.

Mertens, D. R. (1997). Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 80(7), 1463-1481.

Miranda, J., Lasa, A., Fernández-Quintela, A., García-Marzo, C., Ayo, J., Dentin, R., & Portillo, M. P. (2011). *cis*-9, *trans*-11, *cis*-15 and *cis*-9, *trans*-13, *cis*-15 CLNA mixture activates PPAR α in HEK293 and reduces triacylglycerols in 3T3-L1 cells. *Lipids*, 46(11), 1005-1012.

- Moate, P. J., Chalupa, W., Jenkins, T. C., & Boston, R. C. (2004). A model to describe ruminal metabolism and intestinal absorption of long chain fatty acids. *Animal Feed Science and Technology*, 112(1), 79-105.
- Modaresi, J., Nasri, M. F., Rashidi, L., Dayani, O., & Kebreab, E. (2011). Short communication: Effects of supplementation with pomegranate seed pulp on concentrations of conjugated linoleic acid and puniic acid in goat milk. *Journal of Dairy Science*, 94(8), 4075-4080.
- Mohammed, R., Khorasani, R., Goonewardene, L., Kramer, J., & Kennelly, J. (2011a). Persistency of milk *trans*-18: 1 isomers and rumenic acid in Holstein cows over a full lactation. *Canadian Journal of Animal Science*, 91(1), 147-167
- Mohammed, R., McGinn, S. M., & Beauchemin, K. A. (2011b). Prediction of enteric methane output from milk fatty acid concentrations and rumen fermentation parameters in dairy cows fed sunflower, flax, or canola seeds. *Journal of Dairy Science*, 94(12), 6057-6068.
- Molina-Alcaide, E., Morales-García, E. Y., Martín-García, A. I., Salem, H. B., Nefzaoui, A., & Sanz-Sampelayo, M. R. (2010). Effects of partial replacement of concentrate with feed blocks on nutrient utilization, microbial N flow, and milk yield and composition in goats. *Journal of Dairy Science*, 93(5), 2076-2087.
- Montoya, J. C., Bhagwat, A. M., Peiren, N., De Campeneere, S., De Baets, B., & Fievez, V. (2011). Relationships between odd-and branched-chain fatty acid profiles in milk and calculated enteric methane proportion for lactating dairy cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 166, 596-602.
- Morand-Fehr, P., & Sauvant, D. (1978). Nutrition and optimum performance of dairy goats. *Livestock Production Science*, 5(2), 203-213.

Mosley, E. E., Powell, G. L., Riley, M. B., & Jenkins, T. C. (2002). Microbial biohydrogenation of oleic acid to *trans* isomers *in vitro*. *Journal of Lipid Research*, 43(2), 290-296.

Mosley, E. E., & McGuire, M. A. (2007). Methodology for the *in vivo* measurement of the $\Delta 9$ -desaturation of myristic, palmitic, and stearic acids in lactating dairy cattle. *Lipids*, 42(10), 939-945.

Moss, A. R., Jouany, J. P., & Newbold, J. (2000). Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Annales de Zootechnie*, 49(3), 231-253.

Mozaffarian, D., Aro, A., & Willett, W. C. (2009). Health effects of *trans*-fatty acids: experimental and observational evidence. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63, S5-S21.

Mozaffarian, D., Cao, H., King, I. B., Lemaitre, R. N., Song, X., Siscovick, D. S., & Hotamisligil, G. S. (2010). Trans-palmitoleic acid, metabolic risk factors, and new-onset diabetes in US adults: a cohort study. *Annals of Internal Medicine*, 153(12), 790-799.

Mozaffarian, D., de Oliveira Otto, M. C., Lemaitre, R. N., Fretts, A. M., Hotamisligil, G., Tsai, M. Y., Siscovick, D. S., & Nettleton, J. A. (2013). Trans-palmitoleic acid, other dairy fat biomarkers, and incident diabetes: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *American Journal of Clinical Nutrition*, 97(4), 854-861.

Nguyen, P., Leray, V., Diez, M., Serisier, S., Bloc'h, J. L., Siliart, B., & Dumon, H. (2008). Liver lipid metabolism. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 92(3), 272-283.

Nudda, A., Battacone, G., Usai, M. G., Fancellu, S., & Pulina, G. (2006). Supplementation with extruded linseed cake affects concentrations of conjugated linoleic acid and vaccenic acid in goat milk. *Journal of Dairy Science*, 89(1), 277-282.

Nudda, A., Battacone, G., Boaventura Neto, O., Cannas, A., Francesconi, A. H. D., Atzori, A. S., & Pulina, G. (2014). Feeding strategies to design the fatty acid profile of sheep milk and cheese. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 43(8), 445-456.

Ollier, S., Leroux, C., De la Foye, A., Bernard, L., Rouel, J., & Chilliard, Y. (2009). Whole intact rapeseeds or sunflower oil in high-forage or high-concentrate diets affects milk yield, milk composition, and mammary gene expression profile in goats. *Journal of Dairy Science*, 92(11), 5544-5560.

Or-Rashid, M. M., Odongo, N. E., & McBride, B. W. (2007). Fatty acid composition of ruminal bacteria and protozoa, with emphasis on conjugated linoleic acid, vaccenic acid, and odd-chain and branched-chain fatty acids. *Journal of Animal Science*, 85(5), 1228-1234.

Or-Rashid, M. M., Wright, T. C., & McBride, B. W. (2009). Microbial fatty acid conversion within the rumen and the subsequent utilization of these fatty acids to improve the healthfulness of ruminant food products. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84(6), 1033-1043.

Or-Rashid, M. M., AlZahal, O., & McBride, B. W. (2011). Comparative studies on the metabolism of linoleic acid by rumen bacteria, protozoa, and their mixture *in vitro*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89(2), 387-395.

Palmquist, D. L., St-Pierre, N., & McClure, K. E. (2004). Tissue fatty acid profiles can be used to quantify endogenous rumenic acid synthesis in lambs. *Journal of Nutrition*, 134(9), 2407-2414.

Palmquist, D.L. (2006). Milk fat: origin fatty acids and influence of nutritional factors thereon. In: *Advanced Dairy Chemistry*, volume 2, 3rd edition; Fox, P. F. and McSweeney, P. L. H. (eds.); Springer, New York, USA; pp. 43-92.

Park, Y. W., Juárez, M., Ramos, M., & Haenlein, G. F. W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68(1), 88-113.

Park, Y. W. (2009). Bioactive components in goat milk. In: *Bioactive Components in Milk and Dairy Products*; Park, Y. W. (ed.); Willey-Blackwell, Ames, USA; pp. 43-81.

Parodi, P. (2006). Nutritional significance of milk lipids. In: *Advanced Dairy Chemistry*, volume 2, 3rd edition; Fox, P. F, and McSweeney, P. L. H. (eds.); Springer, New York, USA; pp. 601-640.

Patra, A. K. (2013). The effect of dietary fats on methane emissions, and its other effects on digestibility, rumen fermentation and lactation performance in cattle: A meta-analysis. *Livestock Science*, 155(2), 244-254.

Patra, A. K., & Lalhriatpuii, M. (2016). Development of statistical models for prediction of enteric methane emission from goats using nutrient composition and intake variables. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 215, 89-99.

Pavón, R. (2012). Metanálisis de los efectos de la adición de fuentes vegetales de grasa a la dieta de cabras lecheras sobre la producción y la composición de la leche. Trabajo Fin de Máster. Universidad de Córdoba.

Pavón, R. (2013). Aceites y semillas en la dieta de ovejas: metanálisis de los efectos sobre la producción y la composición de la leche. Trabajo Fin de Máster. Universidad de Córdoba.

Pereira, P. C. (2014). Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition*, 30(6), 619-627.

Rabiee, A. R., Breinhild, K., Scott, W., Golder, H. M., Block, E., & Lean, I. J. (2012). Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: A meta-analysis and meta-regression. *Journal of Dairy Science*, 95(6), 3225-3247.

Ramin, M., & Huhtanen, P. (2013). Development of equations for predicting methane emissions from ruminants. *Journal of Dairy Science*, 96(4), 2476-2493.

Raynal-Ljutovac, K., Lagriffoul, G., Paccard, P., Guillet, I., & Chilliard, Y. (2008). Composition of goat and sheep milk products: An update. *Small Ruminant Research*, 79(1), 57-72.

Rego, O. A., Alves, S. P., Antunes, L. M. S., Rosa, H. J. D., Alfaia, C. F. M., Prates, J. A. M., Cabrita, A. R. J., Fonseca, A. J. M., & Bessa, R. J. B. (2009). Rumen biohydrogenation-derived fatty acids in milk fat from grazing dairy cows supplemented with rapeseed, sunflower, or linseed oils. *Journal of Dairy Science*, 92(9), 4530-4540.

Rego, O. A., Cabrita, A. R., Rosa, H. J., Alves, S. P., Duarte, V., Fonseca, A. J., Vouzel, C. F., Rocha Pires, F., & Bessa, R. J. (2016). Changes in milk production and milk fatty acid composition of cows switched from pasture to a total mixed ration diet and back to pasture. *Italian Journal of Animal Science*, 15(1), 76-86.

Renna, M., Lussiana, C., Cornale, P., Fortina, R., & Mimosi, A. (2012). Changes in goat milk fatty acids during abrupt transition from indoor to pasture diet. *Small Ruminant Research*, 108(1), 12-21.

Renna, M., Lussiana, C., D'Agostino, M., Mimosi, A., & Fortina, R. (2013). Extruded linseed supplementation in dairy goat diet: effects on productive performance and fatty acid profile of bulk milk, fresh and ripened cheese. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 12(20), 1550-1564.

Romero-Huelva, M., Ramos-Morales, E., & Molina-Alcaide, E. (2012). Nutrient utilization, ruminal fermentation, microbial abundances, and milk yield and composition in dairy goats fed diets including tomato and cucumber waste fruits. *Journal of Dairy Science*, 95(10), 6015-6026.

Roy, A., Ferlay, A., Shingfield, K. J., & Chilliard, Y. (2006). Examination of the persistency of milk fatty acid composition responses to plant oils in cows given different basal diets, with particular emphasis on *trans*-C 18: 1 fatty acids and isomers of conjugated linoleic acid. *Animal Science*, 82(04), 479-492.

Roy, A., Chardigny, J. M., Bauchart, D., Ferlay, A., Lorenz, S., Durand, D., Gruffat, D., Falconnier, Y., Sébédio, J.L., & Chilliard, Y. (2007). Butters rich either in *trans*-10-C18: 1 or in *trans*-11-C18: 1 plus *cis*-9, *trans*-11 CLA differentially affect plasma lipids and aortic fatty streak in experimental atherosclerosis in rabbits. *Animal*, 1(3), 467-476.

Saliba, L., Gervais, R., Lebeuf, Y., & Chouinard, P. Y. (2014). Effect of feeding linseed oil in diets differing in forage to concentrate ratio: 1. Production performance and milk fat content of biohydrogenation intermediates of α -linolenic acid. *Journal of Dairy Research*, 81(01), 82-90.

Sánchez-Juanes, F., Alonso, J. M., Zancada, L., & Hueso, P. (2009). Distribution and fatty acid content of phospholipids from bovine milk and bovine milk fat globule membranes. *International Dairy Journal*, 19(5), 273-278.

Santos-Silva, J., Dentinho, M. T., Francisco, A., Portugal, A. P., Belo, A. T., Martins, A. P., Alves, S. P. & Bessa, R.J.B. (2016). Replacing cereals with

dehydrated citrus pulp in a soybean oil supplemented diet increases vaccenic and rumenic acids in ewe milk. *Journal of Dairy Science*, 99(2), 1173-1182.

Sanz-Sampelayo, M. S., Chilliard, Y., Schmidely, P., & Boza, J. (2007). Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68(1), 42-63.

Sauvant, D. & Morand-Fehr, (1978). Nutrition and optimum performance of dairy goats. *Livestock Production Science*, 5(2), 203-213.

Schröder, M., & Vetter, W. (2013). Detection of 430 fatty acid methyl esters from a transesterified butter sample. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90(6), 771-790.

Serment, A., Schmidely, P., Giger-Reverdin, S., Chapoutot, P., & Sauvant, D. (2011). Effects of the percentage of concentrate on rumen fermentation, nutrient digestibility, plasma metabolites, and milk composition in mid-lactation goats. *Journal of Dairy Science*, 94(8), 3960-3972.

Shen, X., Dannenberger, D., Nuernberg, K., Nuernberg, G., & Zhao, R. (2011). Trans-18: 1 and CLA isomers in rumen and duodenal digesta of bulls fed n-3 and n-6 PUFA-based diets. *Lipids*, 46(9), 831-841.

Shingfield, K. J., Reynolds, C. K., Lupoli, B., Toivonen, V., Yurawecz, M. P., Delmonte, P., Griinari, J.M., Grandison, A.S., & Beever, D. E. (2005). Effect of forage type and proportion of concentrate in the diet on milk fatty acid composition in cows given sunflower oil and fish oil. *Animal Science*, 80(02), 225-238.

Shingfield, K. J., Ahvenjärvi, S., Toivonen, V., Vanhatalo, A., & Huhtanen, P. (2007). Transfer of absorbed *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid into milk is

biologically more efficient than endogenous synthesis from absorbed vaccenic acid in lactating cows. *Journal of Nutrition*, 137(5), 1154-1160.

Shingfield, K. J., Chilliard, Y., Toivonen, V., Kairenius, P., & Givens, D. I. (2008). *Trans* fatty acids and bioactive lipids in ruminant milk. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 606, 3-65.

Shingfield, K. J., Bernard, L., Leroux, C., & Chilliard, Y. (2010a). Role of *trans* fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal*, 4(07), 1140-1166.

Shingfield, K. J., Lee, M. R. F., Humphries, D. J., Scollan, N. D., Toivonen, V., Reynolds, C. K., & Beever, D. E. (2010b). Effect of incremental amounts of fish oil in the diet on ruminal lipid metabolism in growing steers. *British Journal of Nutrition*, 104(01), 56-66.

Shingfield, K. J., Kairenius, P., Ärölä, A., Paillard, D., Muetzel, S., Ahvenjärvi, S., Vanhatalo, A., Huhtanen, P., Vesa Toivonen, V., Mikko Griinari, J. M., & Wallace, R. J. (2012). Dietary fish oil supplements modify ruminal biohydrogenation, alter the flow of fatty acids at the omasum, and induce changes in the ruminal *Butyrivibrio* population in lactating cows. *Journal of Nutrition*, 142(8), 1437-1448.

Shingfield, K. J., Bonnet, M., & Scollan, N. D. (2013). Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal*, 7(s1), 132-162.

Shingfield, K. J., & Wallace, R. J. (2014). Synthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. In: *Conjugated Linoleic Acids and Conjugated Vegetable Oils*; Sels B. and Philippaerts A. (eds.); Royal Society of Chemistry, London, UK; pp. 1-64.

Simopoulos, A. P. (2008). The importance of the ω -6/ ω -3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine*, 233(6), 674-688.

Smit, L. A., Willett, W. C., & Campos, H. (2010). Trans-fatty acid isomers in adipose tissue have divergent associations with adiposity in humans. *Lipids*, 45(8), 693-700.

Sofi, F., Cesari, F., Abbate, R., Gensini, G. F., & Casini, A. (2008). Adherence to Mediterranean diet and health status: meta-analysis. *BMJ*, 1337a1344.

Soják, L., Blaško, J., Kubinec, R., Górová, R., Szabó, A. H., Májek, P., & Margetín, M. (2015). Time-dependent changes in milk fatty acid composition of ewes fed a winter ration supplemented with linseed or sunflower oils. *Czech Journal of Animal Science*, 60(6), 268-280.

Sterk, A., Vlaeminck, B., van Vuuren, A. M., Hendriks, W. H., & Dijkstra, J. (2012). Effects of feeding different linseed sources on omasal fatty acid flows and fatty acid profiles of plasma and milk fat in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95(6), 3149-3165.

Sun, Y. Z., Mao, S. Y., & Zhu, W. Y. (2010). Rumen chemical and bacterial changes during stepwise adaptation to a high-concentrate diet in goats. *Animal*, 4(02), 210-217.

Suhr, D.D. (2005). Principal component analysis vs exploratory factor analysis. Paper 203-30. In *Proceedings of the Thirtieth Annual SAS Users Group International Conference*, SAS Institute Inc., Cary NC.

Toral, P. G., Shingfield, K. J., Hervás, G., Toivonen, V., & Frutos, P. (2010). Effect of fish oil and sunflower oil on rumen fermentation characteristics and

fatty acid composition of digesta in ewes fed a high concentrate diet. *Journal of Dairy science*, 93(10), 4804-4817.

Toral, P. G., Bernard, L., Chilliard, Y., & Glasser, F. (2013). Short communication: Diet-induced variations in milk fatty acid composition have minor effects on the estimated melting point of milk fat in cows, goats, and ewes: Insights from a meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 96(2), 1232-1236.

Tufarelli, V., Dario, M., & Laudadio, V. (2009). Forage to concentrate ratio in Jonica breed goats: influence on lactation curve and milk composition. *Journal of Dairy Research*, 76(01), 124-128.

Turner, T. D., Meadus, W. J., Mapiye, C., Vahmani, P., Lopez-Campos, O., Duff, P., Rolland, D. C., Church, J. S., & Dugan, M. E. R. (2015). Isolation of α -linolenic acid biohydrogenation products by combined silver ion solid phase extraction and semi-preparative high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 980, 34-40.

Turpeinen, A. M., Mutanen, M., Aro, A., Salminen, I., Basu, S., Palmquist, D. L., & Griinari, J. M. (2002). Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 76(3), 504-510.

Ulbricht, T. L. V., & Southgate, D. A. T. (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*, 338(8773), 985-992.

Van Lingen, H. J., Crompton, L. A., Hendriks, W. H., Reynolds, C. K., & Dijkstra, J. (2014). Meta-analysis of relationships between enteric methane yield and milk fatty acid profile in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 97(11), 7115-7132.

Van Nespen, T., Vlaeminck, B., Wanzele, W., Van Straalen, W., Fievez, V. (2005). Use of specific milk fatty acids as diagnostic tool for rumen acidosis in

dairy cows. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 70(2), 1-4.

Van Soest, P. V., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583-3597.

Vasta, V., Nudda, A., Cannas, A., Lanza, M., & Priolo, A. (2008). Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 147(1), 223-246.

Vargas, J. E., Andrés, S., Yáñez Ruiz, D. R., & López, S. (2011). The effect of olive, sunflower or linseed oils on the fermentation pattern and methane production in the rumen simulating technique. *Options Méditerranéennes: Série A Séminaires Méditerranéens*, 99, 163-168.

Vlaeminck, B., & Fievez, V. (2004). Milk odd and branched-chain fatty acids to predict ruminal methanogenesis in dairy cows. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 70(2), 43-47.

Vlaeminck, B., Fievez, V., Cabrita, A. R. J., Fonseca, A. J. M., & Dewhurst, R. J. (2006a). Factors affecting odd-and branched-chain fatty acids in milk: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 131(3), 389-417.

Vlaeminck, B., Fievez, V., Demeyer, D., & Dewhurst, R. J. (2006b). Effect of forage: concentrate ratio on fatty acid composition of rumen bacteria isolated from ruminal and duodenal digesta. *Journal of Dairy Science*, 89(7), 2668-2678.

Vlaeminck, B., Fievez, V., Tamminga, S., Dewhurst, R. J., Van Vuuren, A., De Brabander, D., & Demeyer, D. (2006c). Milk odd-and branched-chain fatty acids in relation to the rumen fermentation pattern. *Journal of Dairy Science*, 89(10), 3954-3964.

Vlaeminck, B., Gervais, R., Rahman, M. M., Gadeyne, F., Gorniak, M., Doreau, M., & Fievez, V. (2015). Postruminal synthesis modifies the odd-and branched-chain fatty acid profile from the duodenum to milk. *Journal of Dairy Science*, 98(7), 4829-4840.

Wąsowska, I., Maia, M. R. G., Niedźwiedzka, K. M., Czauderna, M., Ribeiro, J. R., Devillard, E., Shingfield, K. J., & Wallace, R. J. (2006). Influence of fish oil on ruminal biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids. *British Journal of Nutrition*, 95(06), 1199-1211.

Watkins, S. M., Carter, L. C., Mak, J., Tsau, J., Yamamoto, S., & German, J. B. (1999). Butyric acid and tributyrin induce apoptosis in human hepatic tumour cells. *Journal of Dairy Research*, 66(04), 559-567.

Wilde, P. F., & Dawson, R. M. C. (1966). The biohydrogenation of α -linoleic acid and oleic acid by rumen micro-organisms. *Biochemical Journal*, 98(2), 469.

Wongtangtintharn, S., Oku, H., Iwasaki, H., & Toda, T. (2004). Effect of branched-chain fatty acids on fatty acid biosynthesis of human breast cancer cells. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 50(2), 137-143.

Woo, A. H., & Lindsay, R. C. (1984). Concentrations of major free fatty acids and flavor development in Italian cheese varieties. *Journal of Dairy Science*, 67(5), 960-968.

Wood, R. (1979). Incorporation of dietary cis and trans octadecenoate isomers in the lipid classes of various rat-tissues. *Lipids*, 14 (12), 975-982.

World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2003). *Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases: Report*

of a Joint WHO/FAO Expert Consultation (WHO Technical Report Series 916). Geneva, Switzerland.

Xu, H. F., Luo, J., Zhao, W. S., Yang, Y. C., Tian, H. B., Shi, H. B., & Bionaz, M. (2016). Overexpression of SREBP1 (sterol regulatory element binding protein 1) promotes *de novo* fatty acid synthesis and triacylglycerol accumulation in goat mammary epithelial cells. *Journal of Dairy Science*, 99(1), 783-795.

Yang, S. L., Bu, D. P., Wang, J. Q., Hu, Z. Y., Li, D., Wei, H. Y., Zhou L. Y., & Looor, J. J. (2009). Soybean oil and linseed oil supplementation affect profiles of ruminal microorganisms in dairy cows. *Animal*, 3(11), 1562-1569.

Yang, Z., Liu, S., Chen, X., Chen, H., Huang, M., & Zheng, J. (2000). Induction of apoptotic cell death and *in vivo* growth inhibition of human cancer cells by a saturated branched-chain fatty acid, 13-methyltetradecanoic acid. *Cancer Research*, 60(3), 505-509.

Zhang, R. H., Mustafa, A. F., & Zhao, X. (2006). Effects of feeding oilseeds rich in linoleic and linolenic fatty acids to lactating ewes on cheese yield and on fatty acid composition of milk and cheese. *Animal Feed Science and Technology*, 127(3), 220-233.

Zened, A., Troegeler-Meynadier, A., Nicot, M. C., Combes, S., Cauquil, L., Farizon, Y., & Enjalbert, F. (2011). Starch and oil in the donor cow diet and starch in substrate differently affect the *in vitro* ruminal biohydrogenation of linoleic and linolenic acids. *Journal of Dairy Science*, 94(11), 5634-5645.

Zened, A., Enjalbert, F., Nicot, M. C., & Troegeler-Meynadier, A. (2013). Starch plus sunflower oil addition to the diet of dry dairy cows results in a *trans*-11 to *trans*-10 shift of biohydrogenation. *Journal of Dairy Science*, 96(1), 451-459.

Zervas, G., Fegeros, K., Koytsotolis, K., Goulas, C., & Mantzios, A. (1998). Soy hulls as a replacement for maize in lactating dairy ewe diets with or without dietary fat supplements. *Animal Feed Science and Technology*, 76(1), 65-75.

Zervas, G., & Tsiplakou, E. (2013). Goat Milk. In: *Milk and Dairy Products in Human Nutrition*; Park, Y. W. and Haenlein, G. F. W. (eds.); Wiley-Blackwell, Oxford, UK; pp. 498-518.

Zhao, X. H., Zhang, T., Xu, M., & Yao, J. H. (2011). Effects of physically effective fiber on chewing activity, ruminal fermentation, and digestibility in goats. *Journal of Animal Science*, 89(2), 501-509.

Zhu, H., Fievez, V., Mao, S., He, W., & Zhu, W. (2016). Dose and time response of ruminally infused algae on rumen fermentation characteristics, biohydrogenation and *Butyrivibrio* group bacteria in goats. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 7(1), 1-12.

Zock, P. L. (2006). Health problems associated with saturated and *trans* fatty acids intake. In: *Improving the Fat Content of Foods*; Williams, C. and Buttriss, J. (eds.); CRC Press, Boca Raton, USA; pp. 3-24.